

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS**

**ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL DE LARVAS,  
JOVENS E FÊMEAS ADULTAS DO PALEMONÍDEO  
*Macrobrachium potiuna*  
(CRUSTACEA, DECAPODA)**

**MARCELO DIAS**

**Florianópolis- Santa Catarina - Brasil**

**Fevereiro de 2002.**

**ORGANIZAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO CENTRAL  
DE LARVAS, JOVENS E FÊMEAS ADULTAS DO PALEMONÍDEO**

***Macrobrachium potiuna***  
**(CRUSTACEA, DECAPODA)**

Por

MARCELO DIAS

---

Dissertação Apresentada à Universidade Federal de Santa Catarina como Requisito  
Parcial à Obtenção do Título de Mestre em Neurociências.

Orientadora Prof<sup>ª</sup>. Dr<sup>ª</sup>. Yara Maria Rauh Müller

Florianópolis, SC, Brasil

Fevereiro de 2002.

**"ORGANIZAÇÃO DO PEDÚNCULO ÓPTICO E DO GÂNGLIO CEREBRAL DE LARVAS, JOVENS E ADULTOS DE *Macrobrachium potiana* (CRUSTACEA DECAPODA)".**

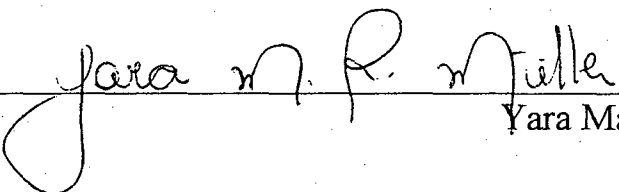
**MARCELO DIAS**

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

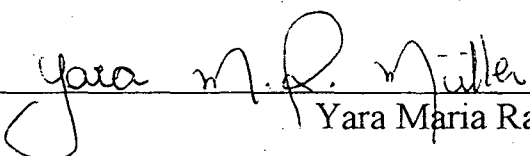
**MESTRE EM NEUROCIÊNCIAS**

na área de Neurofisiologia e Comportamento Aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Neurociências.

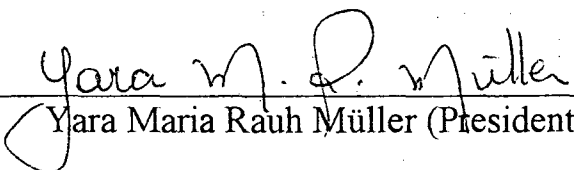
Orientadora

  
Yara Maria Rauh Müller

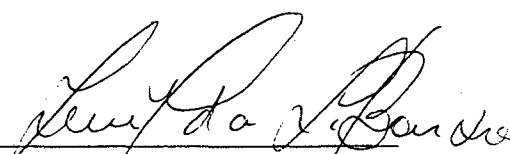
Coordenadora do Curso

  
Yara Maria Rauh Müller

Banca Examinadora

  
Yara Maria Rauh Müller (Presidente)

  
Klaus Hartfelder

  
Zenilda Laurita Bouzon

Este trabalho é dedicado a todas as pessoas que de uma maneira ou de outra contribuíram para a minha formação profissional, científica e principalmente pessoal durante o período deste mestrado.

Graças à vocês, sei que hoje sou uma pessoa melhor do que ontem e isto continua...



Eu te digo: estou tentando captar a quarta dimensão do instante-já que de tão fugidio não é mais porque agora tornou-se um novo instante-já que também não é mais. Cada coisa tem um instante em que ela é. Quero apossar-me do é da coisa. Esses instantes que decorrem no ar que respiro: em fogos de artifício eles espocam mudos no espaço. Quero possuir os átomos do tempo. E quero capturar o presente que pela sua própria natureza me é interdito: o presente me foge, a atualidade me escapa, a atualidade sou eu sempre no já (...).

Clarice Lispector, fragmento de *Água Viva*, 1973.

*Procuraremos um terceiro tigre,  
Como os outros, este será uma forma  
De meu sonho, um sistema de palavras  
Humanas, não o tigre vertebrado  
Que , para além destas mitologias  
Pisa a terra. Sei disso, mas algo  
Me impõe esta aventura indefinida,  
Insensata e antiga, e persevero  
Em procurar pelo tempo da tarde  
O outro tigre, o que não está no verso.*

*J.L.Borges, "O outro tigre", 1960*

## AGRADECIMENTOS

Acredito que mesmo utilizando todas as páginas desta dissertação, eu não conseguiria expressar minha gratidão, meu respeito e reconhecimento às pessoas aqui relacionadas:

À Professora Dra. Yara Maria Rauh Müller por ter acreditado em mim, quando nem eu mesmo acreditava. À luz do seu idealismo e crença na capacidade de crescimento e superação humana, compreendemos o sentido real da palavra "formação".

Aos meus pais, em especial à minha mãe, por todo estímulo, força e luz dispensados nos meus momentos de angústia e pessimismo, bem como o regozijo nas horas de alegria; eu amo vocês...

À Evelise e ao Dib, amigos tão queridos, seu conhecimento serviu de substrato e inspiração e abriu verdadeiras clareiras de luz, quando a sombra da dúvida se tornava para mim, maior que as evidências dos fatos...

À Márcia, a quem tenho como irmã, estou certo de que nossos laços de afinidade vem de muito tempo e que permanecerão...

Ao Fernando, pelo companheirismo, amizade e por me mostrar que sempre existe uma nova maneira de ser e de crescer.

Às ex-colegas de laboratório, Maria Fernanda e Fernanda, e em especial à Cristiane por tudo o que me ensinou, foi um grande prazer conviver com vocês.

Aos atuais colegas de laboratório, Janaína, Marcos, Crislei, Roberto, Talita e Professor Paulo, passamos bons momentos juntos, formamos uma boa equipe!

Aos professores da pós-graduação em Neurociências, todos tem sua participação na construção do meu pensamento atual.

Aos meus colegas de Mestrado, com os quais aprendi muito...

À CAPES, órgão indispensável à realização da pesquisa universitária no Brasil.

Ao Nivaldo, que sempre quebrou todo tipo de galho burocrático na secretaria da pós-graduação

Às moças da limpeza e manutenção do prédio e do laboratório do BEG, por manterem o ambiente limpo e agradável.

MUITO OBRIGADO!

## SUMÁRIO

LISTA DE FIGURAS.....	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMO .....	xi
ABSTRACT.....	xii
1.INTRODUÇÃO.....	13
2.OBJETIVOS.....	34
2.1. Objetivo Geral .....	34
2.2. Objetivo Específico .....	34
3. MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
3.1. Caracterização da espécie.....	35
3.2. Obtenção dos espécimens.....	36
3.3. Análise e manuseio dos espécimens .....	36
3.4. Dissecção do sistema nervoso.....	37
3.5. Preparo histológico .....	38
3.6. Preparo imunohistoquímico.....	42
3.7. Análise das lâminas.....	43
3.8. Apresentação dos resultados.....	44
4. RESULTADOS.....	45
4.1 Caracterização do desenvolvimento larval .....	45
4.2 Organização do sistema nervoso larval.....	48
4.2.1 Primeiro estágio larval .....	48
4.2.2 Segundo estágio larval .....	55
4.2.3 Terceiro estágio larval .....	48
4.3. Tipos celulares presentes no gânglio cerebral e pedúnculo óptico de Macrobrachium potiana.....	63
4.4 Organização do sistema nervoso juvenil.....	68
4.5. Organização do sistema nervoso do adulto.....	74
5. DISCUSSÃO.....	87
6. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	100
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	103

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** A Representação dos neurópilos e sua posição nos pedúnculos ópticos e na região dorsal anterior mediana do cefalotórax (Sandeman & Scholtz, 1995). B Diagrama em blocos proposto por Sandeman et al. (1992), os quadros correspondem aos neurópilos e as barras de ligação entre eles representam os principais tractos e conectivos.....19
- Figura 2:** Representação esquemática do pedúnculo óptico de crustáceo decápode.....24
- Figura 3.:** Desenho de um indivíduo adulto da espécie *Macrobrachium potiuna*.....35
- Figura 4:** Abertura da carapaça dorsal do cefalotórax e exposição das víscera e do gânglio cerebral de uma fêmea da espécie *Macrobrachium potiuna*.....38
- Figura 5:** Planos de corte adotados para os indivíduos de *M. potiuna* a) Plano frontal e transversal para os indivíduos na fase larval e juvenil b) Plano de corte do pedúnculo óptico e gânglio cerebral de adultos, frontal (superior) e transversal (inferior).....40
- Figura 6:** Primeiro estágio larval de *M. potiuna*. a- Vista dorsal do cefalotórax destacando os olhos sésseis. b- Extremidade distal do último segmento abdominal.....47
- Figura 7:** Segundo estágio larval de *M. potiuna*. a- Vista dorsal do cefalotórax destacando os olhos semi-sésseis.. b- Detalhe da extremidade distal do último segmento abdominal, destacando a formação dos urópodos. ....47
- Figura 8:** Terceiro estágio larval de *M. potiuna*. a- Vista dorsal do cefalotórax destacando os olhos pedunculados. b- Detalhe da extremidade distal do último segmento abdominal destacando o télson e os urópodos. ....48
- Figura 9:** Secção longitudinal do olho composto larval. ....51
- Figura 10:** Secção frontal do pedúnculo óptico no primeiro estágio larval de *M. potiuna*. ....51
- Figura 11:** Secção frontal do gânglio cerebral no primeiro estágio larval de *M. potiuna*.....54

<b>Figura 12:</b> Secção frontal do gânglio cerebral no primeiro estágio larval de <i>M. potiuna</i> destacando os agrupamentos dorsais anteriores. ....	54
<b>Figura 13:</b> Face ventral do gânglio cerebral no primeiro estágio larval de <i>M. potiuna</i> destacando os neurópilos deutocerebrais e tritocerebrais.....	54
<b>Figura 14:</b> Detalhe do lobo olfatório/acessório no primeiro estágio larval de <i>M. potiuna</i> . ....	54
<b>Figura 15:</b> Secção frontal do pedúnculo óptico no segundo estágio larval de <i>M. potiuna</i> .....	56
<b>Figura 16:</b> Detalhe da glândula do Sinus no segundo estágio larval de <i>M. potiuna</i> .....	56
<b>Figura 17:</b> Secção transversal do gânglio cerebral no segundo estágio larval de <i>M. potiuna</i> . ....	56
<b>Figura 18:</b> Sítio de imunomarcacão serotoninérgica no pedúnculo óptico larval de <i>M. potiuna</i> . a- primeiro estágio larval. b- segundo estágio larval. c- terceiro estágio larval. ....	61
<b>Figura 19:</b> Detalhe da imunomarcacão serotoninérgica nos corpos celulares periféricos do agrupamento ventral medial do gânglio cerebral, no segundo estágio larval de <i>M. potiuna</i> . ....	62
<b>Figura 20:</b> Imunomarcacão serotoninérgica nos corpos celulares que envolvem o lobo olfatório/acessório no segundo estágio larval de <i>M. potiuna</i> . ....	62
<b>Figura 21:</b> Corpos celulares presentes no pedúnculo óptico e gânglio cerebral de <i>M. potiuna</i> . a- Corpos celulares do tipo I II III e IV no agrupamento lateral da medula terminal. b- Corpos celulares do tipo II III e no agrupamento lateral posterior do gânglio cerebral. Corpos celulares do tipo V no agrupamento ventral medial do gânglio cerebral.....	65
<b>Figura 22:</b> Representação esquemática dos cinco tipos celulares presentes no pedúnculo óptico e gânglio cerebral de <i>M. potiuna</i> .....	66
<b>Figura 23:</b> Secção longitudinal do olho composto juvenil. ....	69
<b>Figura 24:</b> Secção frontal do pedúnculo óptico juvenil de <i>M. potiuna</i> . ....	69
<b>Figura 25:</b> Secção parasagital do pedúnculo óptico juvenil de <i>M. potiuna</i> destacando os microglomérulos (↑) da Medula Terminal, a glândula sinus e o trato nervoso da glândula sinus. ....	69
<b>Figura 26:</b> Secção frontal do gânglio cerebral no juvenil de <i>M. potiuna</i> . ....	71
<b>Figura 27:</b> Face ventral do gânglio cerebral juvenil de <i>M. potiuna</i> . ....	71
<b>Figura 28:</b> Detalhe do lobo olfatório/acessório juvenil de <i>M. potiuna</i> . ....	71

- Figura 29:** Imunomarcção serotoninérgica (↑)nos agrupamento de corpos celulares que envolvem os neurópilos do pedúnculo óptico juvenil de *M. potiuna*. .....73
- Figura 30:** Região lateral do pedúnculo óptico juvenil de *M. potiuna*, destacando a imunomarcção serotoninérgica no neurônio gigante da medula terminal. ....73
- Figura 31:** Imunoreatividade serotoninérgica no gânglio cerebral, juvenil de *M. potiuna*. .....73
- Figura 32:** Detalhe da imunomarcção serotoninérgica no lobo olfatório/acessório e nos grandes neurônios do agrupamento lateral posterior em indivíduo jovem de *M. potiuna*.....73
- Figura 33:** Secção longitudinal do olho composto de fêmea adulta de *M. potiuna*.....75
- Figura 34:** Secção frontal do pedúnculo óptico de fêmea adulta de *M. potiuna*.....75
- Fig 35:** Detalhe da glândula do Sinus no pedúnculo óptico de fêmea adulta de *M. potiuna*. ....77
- Fig 36:** Detalhe do órgão de Bellonci na face ventral do pedúnculo óptico de fêmea adulta de *M. potiuna*. ....77
- Figura 37:** Secção frontal do gânglio cerebral de fêmea adulta de *M. potiuna*.....79
- Fig 38:** Desenho esquemático do gânglio cerebral de fêmea adulta de *M potiuna*, destacando a posição dos agrupamentos de corpos celulares. Os planos dorsal e ventral foram sobrepostos.....79
- Figura 39:** Gânglio cerebral de fêmea adulta de *M. potiuna*. a- protocérebro. b- deutocérebro destacando o trato glomérulo olfatório, c- deutocérebro destacando o neurópilo medial das antênulas. ....81
- Figura 40:** Imunomarcção serotoninérgica (↑)nos agrupamento de corpos celulares e nos microglomérulos que envolvem a medula terminal do pedúnculo óptico de fêmea adulta de *M. potiuna*. ....84
- Figura 41:** Região lateral do pedúnculo óptico de fêmea adulta de *M. potiuna*, destacando a imunomarcção serotoninérgica no neurônio gigante da medula terminal. .84
- Figura 42:** Imunoreatividade serotoninérgica no agrupamento medial anterior do gânglio cerebral de fêmea adulta de *M. potiuna*. ....85
- Figura 43:** Detalhe da imunomarcção serotoninérgica nos glomérulos do lobo olfatório/acessório e nos grandes neurônios do agrupamento lateral posterior em fêmea adulta de *M. potiuna*. ....85

**Figura 44:** Representação esquemática da marcação serotoninérgica nos pedúnculos ópticos e gânglios cerebrais de *M. potiuna*. a larva estágio 1 (esquerda), 2 e 3 (direita) b juvenil e adulto.....85

## LISTA DE ABREVIATURAS

(ala) agrupamento lateral anterior,	(MT) Medula Terminal
(almt) agrupamento lateral da medula terminal,	(N) Neurônio gigante da medula terminal
(alp) agrupamento lateral posterior,	(NLA) Neurópilo Lateral da Antênula
(alpv) agrupamento lateral posterior da face ventral,	(NLAn) Neurópilo Lateral da Antena.
(ama) agrupamento medial anterior	(NMA) Neurópilo Medial da Antênula
(ammmmt) agrupamento medial da medula terminal	(NPMA) Neurópilo Protocerebral Medial Anterior
(amp) agrupamento medial posterior	(NPMP) Neurópilo Protocerebral Medial Posterior
(avm) agrupamento ventral medial	(nr) núcleo retinular
(avm) agrupamento ventral medial.	(O) olho
(c) cone	(OC) Olho Composto
(CC) Corpo Central	(pd) pigmento distal
(CD) Comissura Deutocerebral	(PP) Ponte Protocerebral
(CE) Conectivo esofageal	(PS) poro sensorial
(cg) córtex glomerular	(Q) Quiasma de fibras nervosas
(CH) Corpo Hemielipsóide	(r) rabdoma
(cp) células pigmentares	(R) Retina
(f) fibras nervosas da retina	(rm) região medular
(fa) fibras nervosas das antênulas	(S) glândula do Sinus
(g) grânulos	(Te) télson
(H) vaso Hemal	(TGO) Trato Globular Olfatório,
(lc) lente cuticular	(tp) trato protocerebral,
(lco) lentes corneais	(TS) Trato nervoso da glândula do Sinus
(LG) Lâmina Ganglionar	(u) urópodos.
(LOA) Lobo Olfatório/Acessório	(v) vacúolos,
(mb) membrana basal	(va) vacúolos citoplasmáticos
(ME) Medula Externa	(Vi) vitelo
(MI) Medula Interna	(ZP) zona de proliferação



## RESUMO

*Macrobrachium potiuna* é um camarão endêmico do Brasil. O desenvolvimento larval é do tipo abreviado e esta espécie desenvolve todo seu ciclo de vida em água doce. Com o objetivo de estudar a organização do olho composto, das estruturas neuroendócrinas e dos neurópilos do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral de larvas, jovens e adultos, foram empregados procedimentos histológicos gerais e imunohistoquímicos contra serotonina. No olho composto, formado por uma sequência de omatídeos, verificou-se uma zona de proliferação omatideal que perdura durante a vida larval e juvenil. O olho composto do adulto é muito semelhante, porém apresenta um sistema de proteção pigmentar mais estruturado. Os corpos celulares nas larvas formam um córtex contínuo envolvendo os neurópilos do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral. Nos adultos são reconhecidos agrupamentos celulares característicos, aonde são identificados basicamente 5 diferentes tipos celulares. Todos os neurópilos do gânglio cerebral são verificados desde a primeira fase larval. As larvas apresentam desde a eclosão lobos olfatórios e acessórios fundidos e glomerulares. O corpo hemielipsóide do pedúnculo óptico somente é identificado na segunda fase. A partir desta fase os rudimentos da glândula do sinus são reconhecidos, nos jovens e adultos apresenta-se como um local de armazenamento. O órgão de Bellonci larval apresenta-se como uma região de vacúolos na face dorsal do pedúnculo óptico, enquanto nos adultos está associada a um poro sensorial e localiza-se na face ventral. Um sítio de marcação serotoninérgica intensa é verificado nos grandes corpos celulares da medula terminal do pedúnculo óptico durante as três fases larvais. Na segunda fase larval a marcação é verificada no gânglio cerebral das larvas. Nos jovens e adultos a marcação serotoninérgica é mais difusa e amplamente distribuída. As características do sistema nervoso larval refletem as exigências encontradas no habitat bentônico desde a eclosão, e a complexidade neural atingida pelos adultos parece relacionada às crescentes exigências impostas pelo meio, acompanhadas pela ampliação do repertório comportamental.

## ABSTRACT

*Macrobrachium potiuna* is a native prawn from Brazil. Larval development is abbreviated and this is a strictly fresh-water species. In order to investigate the organization of the compound eyes, the neuroendocrine structure and the neuropiles of the eyestalk and of the cerebral ganglia, in larvae, juveniles and adults, it was utilized general histologic techniques and immunocyttochemical localization of serotonin. In the compound eyes, comprised of several ommatidia, an ommatideal proliferative zone was verified in the larvae and juveniles. The adult compound eye is very similar, but it presents a more elaborated protection pigmentar system. The cell bodies in larvae constitute a cortex involving the neuropiles of the eyestalk and the cerebral ganglia. In adults well delimited cell clusters are recognized, where 5 different cell types can be identified. All neuropiles of the cerebral ganglia are detected since the first larval stage. At hatching the larvae present glomerular, fused olfactory and accessory lobes. The hemiellipsoid body of the eyestalk is only identified in the second larval stage. In this stage the anlage of the sinus gland is identified, in juveniles and adults, it is a storage place. The larval organ of Bellonci presents like a vacuolar cluster in the dorsal face of the eyestalk, while in adults it is associated with a sensory pore in the ventral face. A site of strong 5-HT immunoreactivity was verified in the large cell bodies that surrounds the medulla terminalis of the eyestalk in larval stages. In the second larval stage 5-HT-immunoreactivity was verified in the cerebral ganglia. In juveniles and adults serotonergic immunoreactivity is diffuse and profusely distributed in the eyestalk and cerebral ganglia. The nervous system traits reflect the needs of the benthic life since hatching, and the neural complexity attained in the adults seems to be related to the growing requirement imposed by the adult life, associated with a more refined behavioral repertoire.

## 1. INTRODUÇÃO

Dentre os artrópodes, os crustáceos tem se apresentado como modelo experimental adequado às pesquisas em neurobiologia, pois possuem um sistema nervoso bem organizado e padrões de comportamento que vão desde ações reflexas até interações sociais complexas (Sandeman, 1982; Sandeman *et al.* 1992), como por exemplo o comportamento agressivo associado a defesa de território (Kravitz, 1988).

Em virtude da ampla capacidade de adaptação aos mais diversos ambientes, tanto aquáticos quanto terrestres, aliada às características físicas como o porte e facilidade de obtenção dos indivíduos, os decápodes tem sido as espécies de escolha dentre os crustáceos, no que se refere ao estudo da morfologia do sistema nervoso e seu funcionamento e à plasticidade estrutural e comportamental frente às exigências impostas pelo meio (Sandeman, 1982; Laverack, 1988; Keller, 1992).

Na família *Palaemonidae*, cujos representantes são os camarões de água-doce, diversos aspectos neurobiológicos das espécies pertencentes ao gênero *Macrobrachium* tem sido estudados, como por exemplo a disposição das estruturas do sistema visual de *M. rosenbergi* (Nilsson, 1983), das estruturas neurosecretoras do gânglio cerebral (Araújo & Castro, 1981; McNamara, 1993) e do pedúnculo óptico de *M. acanthurus* (Araújo-Corrêa *et al.*, 1996) além de características fisiológicas, como por exemplo o

controle osmótico e do metabolismo respiratório em *M. olfersii*, *M. acanthurus* e *M. potiuna* (Moreira *et al.* 1983; McNamara, 1987).

## ORGANIZAÇÃO GERAL DO SISTEMA NERVOSO DOS CRUSTÁCEOS

A organização celular do sistema nervoso central dos crustáceos corresponde ao descrito para os artrópodes, onde os corpos celulares estão dispostos na periferia enquanto os prolongamentos nervosos entrelaçados constituem os neurópilos que ocupam a região mais interna (Sandeman, 1982; Delcomyn, 1991; Sandeman *et al.* 1992). Os neurônios são do tipo unipolar e os contatos sinápticos ocorrem exclusivamente entre os neuritos (Delcomyn, 1991). Os neurônios sensoriais são tipicamente bipolares e seus corpos celulares estão localizados próximos aos órgãos sensoriais, sendo que apenas poucos neurônios sensoriais, com morfologia semelhante a dos neurônios motores, possuem seu corpo celular no interior do sistema nervoso central (Laverack, 1988; Delcomyn, 1991). Interpostos aos neurônios sensoriais e motores estão presentes diversos interneurônios, responsáveis pela integração dos estímulos sensoriais e motores (Laverack, 1988).

As sinapses elétricas são raras e a transmissão dos impulsos entre as células nervosas ocorre principalmente através de sinapses químicas. O ácido  $\gamma$ -aminobutírico (GABA), o glutamato e acetilcolina (Ach) entre outros, tem sido descritos como neurotransmissores típicos entre as junções neuromusculares (Barrington, 1979; Delcomyn, 1991). Algumas substâncias ativas como a octopamina, proctolina e a serotonina são referidas como moduladores sinápticos envolvidos na amplificação ou redução da atividade neuronal, apresentando uma ação mais demorada e prolongada que a dos neurotransmissores tradicionais (Fingerman *et al.*, 1994; Bellon-Humbert & Van Herp, 1988; Garcia & Aréchiga, 1998).

Ao nível anatômico o sistema nervoso central compreende o gânglio cerebral e o cordão nervoso. O gânglio cerebral está localizado anteriormente no cefalotórax e é constituído pelos três gânglios principais protocérebro, deutocérebro e tritocérebro que fundiram-se em sua formação (Henry, 1948; Bacon et al., 1997), os quais estão associados às estruturas sensoriais cefálicas ou seja, olhos, antênulas e antenas respectivamente (Hänström, 1947; Sandeman, 1982). Estas três regiões principais (fig.1a) podem ser reconhecidas como modelo básico de arquitetura cerebral entre os artrópodes (Sandeman & Scholtz, 1995) e compartilhado pelos decápodes (Langworthy et al., 1997).

O cordão nervoso tem localização ventral e é formado por pares de gânglios fundidos através da linha média, porém longitudinalmente separados por conectivos pareados (Henry, 1948; Sandeman, 1982; Sandeman et al., 1992; Delcomyn, 1991). O grau de compactação destes gânglios, acompanha o formato do corpo das diferentes espécies de crustáceos, estando mais fundidos nas espécies de corpo curto, como por exemplo os caranguejos, e menos compactados nas espécies de corpo alongado, como no caso dos lagostins e lagostas (Sandeman, 1982).

## O GÂNGLIO CEREBRAL DOS CRUSTÁCEOS

Segundo a proposta de Sandeman et al. (1992) o protocérebro, região mais anterior do gânglio cerebral, pode ser dividido em três conjuntos neuropilares, sendo que os dois primeiros, gânglio óptico e protocérebro lateral respectivamente, estão dispostos ao longo dos pedúnculo ópticos, enquanto o protocérebro medial está situado anteriormente no gânglio cerebral seguido pelo deutocérebro, que ocupa a região medial e o tritocérebro, ligado através do conectivo esofageal ao cordão nervoso ventral (fig.1).

O protocérebro medial é composto por dois neurópilos pareados e dois neurópilos não pareados. O par de neurópilos protocerebrais mediais anteriores está posicionado sobre a linha média na região anterior do protocérebro mediano, e é fundido em sua região posterior ao par de neurópilos protocerebrais mediais posteriores. A ponte protocerebral é formada por espessas bandas axonais e está localizada sobre a linha média entre os neurópilos protocerebrais mediais anteriores (Sandeman *et al.* 1992).

O corpo central localiza-se posteriormente à ponte cerebral e ventralmente ao tracto globular olfatório. Este neurópilo cruza a linha média do gânglio cerebral dividindo os neurópilos protocerebrais mediais anteriores e posteriores (Utting *et al.*, 2000). A identificação de diversas vesículas liberadas por exocitose sugere uma função neuromoduladora parácrina para o corpo central (Schürmann *et al.*, 1991).

A citoarquitetura, e a imunoreatividade neuronal à serotonina e à substância P (Langworthy *et al.* 1997), do conjunto formado pela ponte cerebral e corpo central associados aos seus agrupamentos celulares, possibilitam compará-lo ao complexo central dos insetos, envolvido na integração visual e no controle da atividade motora (Utting *et al.*, 2000).

O deutocérebro, inicialmente atribuído apenas ao processamento das informações sensoriais e a inervação motora das antênulas (McLaughlin, 1983), atualmente é considerado como uma das principais áreas associativas e de processamento de informações sensoriais químicas e mecânicas (Blaustein *et al.*, 1988; Sandeman *et al.*, 1992; Ammar, 2000).

Os lobos olfatórios constituem as regiões neuropilares mais marcantes do deutocérebro, apresentando-se como estruturas esféricas bem delimitadas, posicionadas uma de cada lado no gânglio cerebral, e possuindo organização neuropilar do tipo glomerular. No lobo olfatório chegam os aferentes primários dos quimiorreceptores das antênulas (Sandeman, 1982; Sandeman *et al.* 1992; Blaustein, 1988; Ammar, 2000).

Nem todos os crustáceos apresentam lobos acessórios, e quando presentes, tem tamanho e posição variável entre as espécies (Sandeman *et al.* 1992). No lagostim *Procambarus clarkii*, os lobos acessórios têm formato arredondado, são maiores que os lobos acessórios e estão situados posteriormente a eles. Na lagosta *Panulirus argus* os lobos acessórios são alongados e dispostos medialmente aos lobos olfatórios (Blaustein, *et al.* 1988). Já em palemonídeos do gênero *Macrobrachium*, os lobos acessório e olfatórios apresentam-se fundidos (Ammar, 2000).

Os lobos acessórios não recebem estímulos de neurônios olfatórios e nem foram encontrados eferentes motores em seus campos sinápticos, porém devido a suas conexões através de interneurônios com os lobos olfatórios, presume-se que suas funções estejam relacionadas às destes últimos (Blaustein *et al.*, 1988; Sandeman *et al.*, 1993).

Os lobos olfatórios e acessórios estão ligados à medula terminal do pedúnculo óptico através do trato globular olfatório, sugerindo uma integração dos estímulos estímulos visuais, químicos e mecânicos recebidos e processados nestas três áreas (Blaustein *et al.*, 1988).

Os neurópilos laterais da antênula estão posicionados na região caudal do deutocérebro, recebendo aferentes sensoriais, mecânicos e químicos do estatocisto e das antênulas, além de campos sinápticos dos neurônios que controlam os movimentos das antênulas (Sandeman *et al.*, 1992).

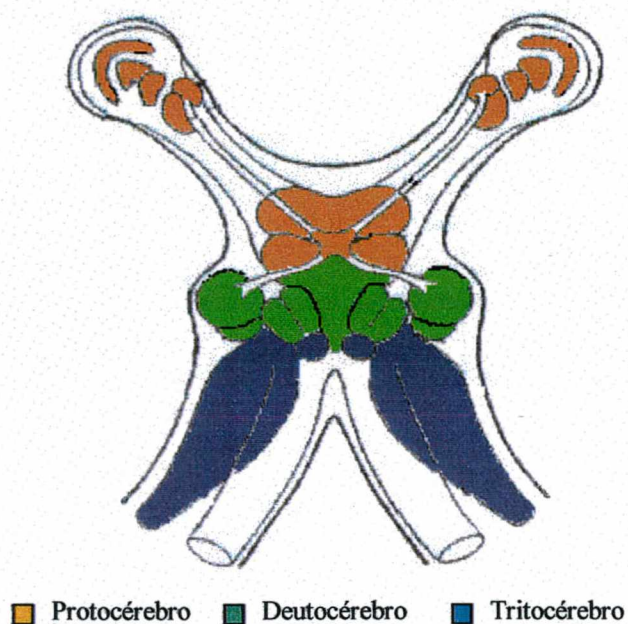
O neurópilo medial da antênula, constitui um conjunto de fibras sem estruturação característica, disposto transversalmente no gânglio cerebral, fundido anteriormente com os neurópilos protocerebrais mediais posteriores e posteriormente com os neurópilos tegumentares do tritocérebro. Pouco é conhecido sobre suas áreas de projeção neuronal (Sandeman *et al.*, 1992).

A região mais caudal do gânglio cerebral é o tritocérebro, considerado por alguns autores como uma região de transição entre o gânglio supra esofágico e o cordão nervoso ventral. Em alguns crustáceos apresenta-se posicionado sobre o conectivo esofageal ou não apresenta-se fundido aos demais neurópilos (Henry, 1948; Sandeman, 1982).

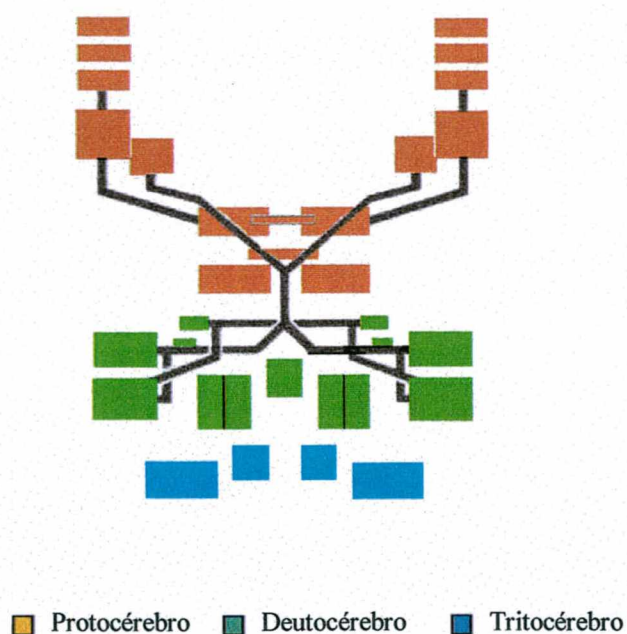
O gânglio tritocerebral é constituído pelos neurópilos da antena, os quais são contínuos com os neurópilos tegumentares. Nos primeiros são encontrados os aferentes primários finais da antena e os campos sinápticos dos neurônios motores que controlam seus movimentos, enquanto os neurópilos tegumentares recebem os estímulos sensoriais da carapaça dorsal, além dos proprioceptores do sistema estomodeal (McLaughlin, 1983; Blaustein *et al.*, 1988; Sandeman, 1990).



A



B



**Figura 1.** A Representação dos neurópilos e sua posição nos pedúnculos ópticos e na região dorsal anterior mediana do cefalotórax (Sandeman & Scholtz, 1995). B Diagrama em blocos proposto por Sandeman et al. (1992), os quadros correspondem aos neurópilos e as barras de ligação entre eles representam os principais tractos e conectivos

## O PEDÚNCULO ÓPTICO DOS CRUSTÁCEOS

O pedúnculo óptico dos crustáceos (fig. 2) é um órgão complexo que congrega estruturas com diferentes funções. Os omatídios formadores do olho composto desenvolvem atividade fotorreceptora (Paulus, 1979; Osorio & Bacon, 1994; Nilsson & Osorio, 1997). O poro sensorial associado ao órgão de Bellonci é descrito como relacionado à quimiorrecepção (Van Herp *et al.* 1979; Bellon-Humbert *et al.* 1978). O processamento das informações visuais é realizada nos neurópilos do gânglio óptico (Harzsh & Dawirs, 1996) e a integração neural dos estímulos provenientes do lobo óptico e do lobo olfatório, são realizados nos neurópilos do protocérebro lateral (Blaustein *et al.*, 1988). Além destas, no pedúnculo óptico está contido o complexo formado órgão X-glândula sinus considerado o principal centro neurosecretor e de controle endócrino dos crustáceos (Knowles & Carlisle, 1956; Cooke & Sullivan, 1982; Fingerman, 1995, 1997).

O componente visual dos crustáceos segue o modelo de olho facetado típico dos artrópodes, composto por diversos omatídios. O omatídio é a unidade fotorreceptora básica, no qual pequenas porções dos raios luminosos são captadas por sistemas de lentes separados e direcionados para diferentes rabdomas. Cada omatídio forma uma imagem de um ponto da área circundante e o somatório de todos os omatídios forma a imagem completa (Paulus, 1979; Nilson, 1983).

O processamento das informações visuais recebidas nos rabdomas do olho composto nos crustáceos decápodes, assim como na grande maioria dos insetos é provavelmente processada pelos três neurópilos do gânglio óptico (Paulus, 1979; Osorio & Bacon, 1997; Harzsh & Dawirs, 1996).

A disposição das fibras nervosas dos neurópilos do lobo óptico, lâmina ganglionar, medula externa e medula interna, acompanha a ordem geométrica paralela



dos receptores da retina, caracterizando neurópilos que seguem o modelo estruturado de organização neuropilar (Sandeman, 1992; Osorio *et al.*, 1997).

Dos neurópilos do protocérebro lateral, a medula terminal é o mais distal aos olhos compostos e possui diversas subdivisões, apresentando em certas regiões a organização neuropilar estruturada do tipo glomerular; enquanto as demais não seguem uma organização estruturada (Sandeman, 1992). Muitos estudos referentes a disposição dos neurópilos do pedúnculo óptico, principalmente os mais antigos, não fazem referência a este último neurópilo denominado de corpo hemielipsóide, o qual apresenta-se como uma projeção bilobada da medula terminal, cujas fibras apresentam organização neuropilar glomerular e tem localização medial no pedúnculo óptico (Blaustein *et al.*, 1988).

Estes dois neurópilos recebem projeções axonais do centros olfatórios do gânglio cerebral (lobo olfatório e acessório) via tracto globular olfatório, além daquelas avindas do protocérebro medial, bem como de outras regiões do gânglio cerebral através do tracto protocerebral que chegam à medula terminal pelo trato protocerebral (Blaustein *et al.*, 1988; Sandeman *et al.*, 1993). A medula terminal e o corpo hemielipsóide parecem constituir um centro de processamento de informações multimodal, incluindo informações visuais, olfatórias e mecânicas (Blaustein *et al.*, 1988; Sandeman *et al.*, 1992; Harzsh & Dawirs, 1999).

As evidências sobre a presença de estruturas com função neurosecretora e sua localização nos pedúnculo ópticos dos crustáceos, semelhante ao trajeto hipófise-hipotalâmico dos cordados ou o sistema pars intercerebralis-corpora cardíaca dos insetos, é conhecida há muito tempo e vem sendo estudada em diferentes espécies e revisada em diversos trabalhos como o de Bliss & Welsh (1952, 1954), Knowles e Carlisle (1956), Adiyodi & Adiyodi (1970), Cooke & Sullivan (1992) e nos trabalhos de Fingerman (1987, 1995, 1997).

O trajeto neurosecretor protocerebral, composto por células neurosecretoras e órgãos neurohemais como a glândula sinus, onde os hormônios entram em contato com a circulação hemal, é descrita para a grande maioria dos crustáceos principalmente na classe Malacostraca (Knowles e Carlisle, 1956; Fingerman, 1997; Marco & Gäde, 1999).

A localização da glândula sinus na região dorso-lateral do pedúnculo óptico, no limite entre as medulas interna e externa, e a presença de corpos celulares neurosecretores formando agrupamentos característicos tem sido descrita para a maioria dos decápodes com variações nos tipos celulares entre as espécies (Hubschman, 1963; Hisano, 1974; Bellon-Humbert *et al.* 1978; Araújo-Corrêa *et al.*, 1996; Parameswaran, 1956; Bliss & Welsh, 1954; Valente, 1960; Madhyastha & Rangneker, 1973; Smith, 1974; Marco & Gäde, 1999).

Os primórdios das estruturas neurosecretores podem ser reconhecidas mesmo entre os crustáceos mais simples, como nos gêneros *Triops*, *Streptocephalus*, *Chirocephalus*, *Artemia* e *Argulus* (Aguilar, 1972, 1977 e 1979) pertencentes a classe Entomostraca.

A glândula sinus é definida como um órgão neurohemal, constituído por terminações axonais de células neurosecretoras e com função de armazenamento dos hormônios sintetizados por estas células e carregados através de seus axônios para posterior liberação nos vasos hemais (Bliss & Welsh, 1954; Knowles & Carlisle, 1956; Smith, 1974; Weatherby, 1981).

À microscopia eletrônica, a estrutura básica da glândula sinus apresenta-se como um aglomerado de fibras axonais não mielinizadas com quantidades variáveis de grânulos ligados a sua membrana interna e às terminações axonais, entremeadas de células gliais e circundada por seios hemolinfáticos (Smith, 1974; Gottfried *et al.*, 1977; Weatherby, 1981).

Associado a glândula sinus, fazendo parte do complexo neurosecretor do pedúnculo óptico dos crustáceos, encontram-se os dois componentes principais do órgão-X, denominados órgão-X ganglionar da medula terminal (pars ganglionaris do órgão-X) e o órgão-X do poro sensorial (pars distalis do órgão-X) (Knowles e Carlisle, 1956). Este último possui células sensorias modificadas, denominadas "onion-bodies (corpos em cebola)" e é por alguns autores denominado de órgão de Bellonci (Smith, 1974, Wormhoudt *et al.*, 1976; Chaigneau, 1977).

Andrew et al. (1978) realizaram uma reavaliação do sistema neurosecretor do pedúnculo óptico do lagostim *Orconetes virilis* e através de iontoforese, associado à microscopia eletrônica, encontraram aproximadamente 115 corpos celulares do órgão X ganglionar, emitindo suas terminações nervosas à glândula sinus, além de um conjunto de fibras nervosas, partindo do gânglio supra-esofágico, percorrendo o trato protocerebral em direção a glândula sinus. Prolongamentos colaterais destas fibras estendem-se aos neurópilos do pedúnculo óptico na proximidade dos elementos visuais, sugerindo uma ligação entre atividade visual e controle neuroendócrino.

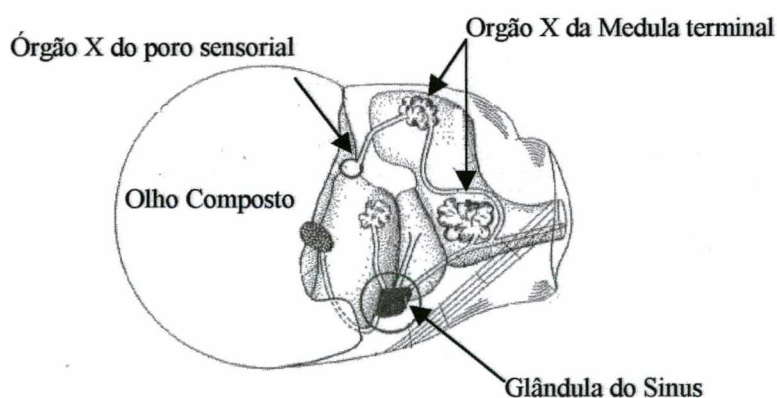
Existem particularidades quanto a localização dos agrupamentos celulares que compõem o órgão X, além de diferenças tanto na denominação, quanto na descrição morfológica dos componentes deste órgão.

Segundo a definição de Knowles e Carlisle (1956), o órgão X ganglionar é um agrupamento de pericários neurosecretores, situado em torno da medula terminal e conectado à glândula sinus por um feixe de fibras axonais enquanto o órgão X do poro sensorial, está localizado na periferia da medula terminal do lado oposto à glândula sinus, e pode ser caracterizado como um conjunto de estruturas circulares, apresentando laminações concêntricas no interior, denominadas de "corpos de cebola", as quais estão ligadas à um conjunto de células sensoriais periféricas, associadas a uma papila ou poro sensorial (Knowles & Carlisle, 1956; Smith, 1974; Hubschman, 1963).



O surgimento das estruturas associadas à função neurosecretora, mais propriamente a glândula sinus e o órgão X do poro sensorial, torna-se evidente durante o desenvolvimento larval, sofrendo considerável reorganização estrutural durante a metamorfose e atingindo complexidade crescente a medida que se processa o desenvolvimento pós-larval até a vida adulta, conforme demonstrado nos palaemonídeos *Palaemonetes kadiakensis* (Hubschman, 1963) e *Palaemon serratus* (Bellon-Humbert *et al.*, 1978) e no lagostim *Astacus leptodactylus* (Van Herp *et al.*, 1979).

A disposição espacial dos neurópilos, agrupamentos celulares, e estruturas neurosecretora dos pedúnculo ópticos varia conforme o modelo de pedúnculo apresentado pela espécie (Hänström, 1947; Sandeman, 1982). Nos crustáceos cujos pedúnculos ópticos são bastante desenvolvidos, como por exemplo no gênero *Carcinus*, os neurópilos do gânglio óptico e do protocérebro lateral estão presentes no interior do pedúnculo propriamente dito. Naqueles crustáceos que apresentam pedúnculos ópticos reduzidos ou aqueles que não possuem pedúnculos ópticos evidentes, a medula terminal e a medula interna, assim como as estruturas neurosecretoras associadas, apresentam-se integradas aos demais neurópilos contidos no gânglio cerebral (Sandeman, 1982; Charmantier-Daures & Segonzac, 1998).



**Figura 2:** Representação esquemática do pedúnculo óptico de crustáceo decápode. (*Leander Serratus* - Knowles & Carlisle, 1959)

## SISTEMA NEUROSECRETOR E CONTROLE ENDÓCRINO NOS CRUSTÁCEOS

O metabolismo dos crustáceos é influenciado por fatores ambientais como temperatura (Pasteur-Humbert, 1962) salinidade (Cheung, 1969) e fotoperíodo (Cheung, 1969; van Wormhoudt et al. 1976) e por fatores internos, controlados principalmente pelos hormônios sintetizados pelas células neurosecretoras do órgão X e armazenados na glândula sinus (Knowles & Carlisle, 1956; Cooke & Sullivan, 1982; Fingerman, 1987, 1997).

Os primeiros estudos sobre a fisiologia do controle endócrino nos crustáceos, foram desenvolvidos através de ablação, implante ou injeção de extratos de diferentes componentes neurosecretores, como a glândula sinus, órgão X ganglionar, órgão de Bellonci, do pedúnculo óptico como um todo, do gânglio torácico ou do supra esofageal, avaliando seus efeitos no metabolismo das diferentes espécies, conforme referenciado nas revisões sobre controle endócrino nos crustáceos realizadas por Knowles & Carlisle (1956), Adiyodi & Adiyodi (1970), Cooke & Sullivan (1982) e Fingerman (1987; 1995; 1997).

Através destes estudos foi evidenciado que diversas atividades fisiológicas estavam relacionadas ao controle endócrino, como a atividade dos cromatóforos (*Palaemonetes* por Perkins e *Cangron* por Koller, 1928, apud Knowles & Carlisle, 1956), indução da muda precoce (*Gecarcinus lateralis* por Bliss & Welsh, 1952; 1954, *Menippe mercenaria* por Cheung, 1956 e *Palaemon serratus* por Pasteur-Humbert, 1962), batimentos cardíacos, metabolismo de açúcar e proteínas no sangue, osmorregulação, taxa metabólica e maturação gonadal (Adiyodi & Adiyodi, 1970; Fingerman, 1997). Estes estudos foram seguido da identificação das estruturas do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral e torácico, responsáveis pela atividade hormonal.

Em estudos realizados na década de 50 e 60, foram descobertos outros órgão relacionados ao controle endócrino, como os órgãos pós-comissurais e os órgãos pericárdicos de natureza neurohemal, além do órgão Y, glândula androgênica e os ovários, os quais foram considerados órgãos endócrinos não neurais (para revisão do assunto, Knowles e Carlisle, 1956; Fingerman, 1995)

Posteriormente os estudos de endocrinologia dos crustáceos concentraram-se na identificação dos diferentes tipos de hormônios e sua natureza química. Foram identificados diversos neurormônios ligados à atividade cromatotrófica, outros relacionados à reprodução e ao crescimento somático como o hormônio inibidor da muda, encontrado na glândula sinus, hormônio estimulador da gônada, presente no gânglio torácico e no gânglio supra-esofágico, e o hormônio inibidor da gônada, presente na glândula sinus. O metabolismo de açúcares da hemolinfa também é controlado por atividade endócrina do hormônio hiperglicêmico. No órgão Y, de natureza não neural, são sintetizados uma série de ecdisteróides, envolvidos no controle da muda e no crescimento somático (para revisão do assunto Cooke and Sullivan, 1982; Fingerman, 1987, 1997; Keller, 1992).

Nos últimos anos o metilfarnesoato, hormônio produzido nos órgãos mandibulares dos crustáceos e liberados nas corrente hemolinfática tem sido intensamente estudada. Este hormônio é muito semelhante ao hormônio juvenil dos insetos e parece implicado numa série de funções tanto na reprodução, quanto na embriogênese dos crustáceos (Laufer et al. 1993; Homola & Chang, 1997; Subramoniam, 2000)

Na década de 90 os esforços no âmbito da endocrinologia dos crustáceos tem se voltado para a identificação dos neurotransmissores envolvidos no controle das células neurosecretoras. Aréchiga et al. (1990) demonstrou a atividade excitatória do GABA (ácido gama aminobutírico) sobre as células neurosecretoras do órgão X no lagostim. García & Aréchiga (1998) apontam que além do GABA, a dopamina, as encefalinas e a



serotonina estão implicadas na liberação dos neuropeptídeos do complexo órgão X-glândula sinus. A atividade neuromoduladora da serotonina sobre as células neurosecretores do órgão X do lagostim *Procambarus clarkii*, também foram demonstradas através de experimentos in vivo e in vitro por Sáenz *et al.* (1997).

Sarojini *et al.* (1994) apontaram que a atividade indireta da serotonina, sobre as glândulas androgênicas promove a aceleração da maturação testicular no lagostim *Procambarus clarki*. Estes mesmos autores demonstraram que a ação estimuladora serotoninérgica sobre a maturação testicular, pode ser inibida através da aplicação da dopamina e seus agonistas no caranguejo *Uca pugilator*, provavelmente levando a inibição do hormônio estimulador da gônada, estimulação do hormônio inibidor da gônada ou pela combinação dos efeitos destes dois hormônios.

O atual conhecimento da natureza química dos componentes hormonais e os avanços tecnológicos facilitaram o isolamento e a elaboração de anticorpos específicos, contra alguns dos hormônios dos crustáceos, o que tem possibilitado a imunodeteção dos mesmos nas estruturas do sistema nervoso central entre diversos crustáceos.

Rotllant *et al.* (1993) constataram através de técnica de imunohistoquímica a imunodeteção dos hormônios hiperglicêmico e do hormônio inibidor da muda em aproximadamente 20 células neurosecretores do órgão X da medula terminal, no trato da glândula sinus e na glândula sinus, nos três estágios larvais e no primeiro estágio pós-larval da lagosta *Homarus gamarus*, encontrando colocalização em alguns corpos celulares.

Zhang *et al.* (1997) demonstraram a localização do hormônio hiperglicêmico nos sistema nervoso central e periférico das espécies *Daphnia magna* e *Artemia salina*, através de técnicas imunocitoquímicas utilizando anticorpo específico do hormônio hiperglicêmico dos decápodes *Orconectes limonsus* e *Carcinus maenas*.

Marco & Gäde (1999) desenvolveram um estudo imunocitoquímico comparando a localização dos hormônios hiperglicêmico; hormônio inibidor da muda e hormônio inibidor da vitelogênese nos palinurídeo *Jasus lalandii* e *Panulirus homarus* e no braquiurídeo *Carcinus maenas* utilizando anticorpos desenvolvidos em três outras espécies de crustáceos, encontrado imunodeteção dos três neurohormônios pesquisados nos corpos celulares do órgão X e na glândula sinus das três espécies estudadas.

Estudos utilizando técnicas de imunocitoquímica, como os acima referidos, apresentam a localização específica dos hormônios em células neurosecretoras e órgão neurohemais, sugerindo função, localização e estrutura bioquímica conservativa destes hormônios entre as diferentes espécies de crustáceos.

Além da detecção dos hormônios, a identificação em nível imunohistoquímico dos neurotransmissores no sistema nervoso central, também tem sido amplamente estudada, promovendo a compreensão de sua distribuição no sistema nervoso central e possibilitando apurar a função destas substâncias nos mecanismos neurais. Um neurotransmissor que tem recebido grande atenção é a amina biogênica 5-hidroxitriptamina (5HT).

## **IMUNODETECÇÃO SEROTONÉRGICA NO SISTEMA NERVOSO DOS ARTRÓPODES**

A serotonina (5HT) está relacionada tanto às funções neurotransmissoras e neuromoduladoras no sistema nervoso (Aréchiga *et al.*, 1990; García & Aréchiga 1996), quanto às funções regulatórias não-transmissoras durante o desenvolvimento, surgindo precocemente na embriogênese em períodos que antecedem o início da sinaptogênese ou neurotransmissão (Fingerman *et al.*, 1994; Sandeman *et al.*, 1995; Beltz, 1999). Durante a embriogênese esta amina parece ter importante função na modelagem de

neurônios em desenvolvimento e nos modelos de regulação de conectividade (Beltz *et al.*, 1992), atuando como fator neurotrófico e guia de crescimento dos neurito em direção aos seus alvos sinaptogênicos (Beltz *et al.*, 1992; Benton *et al.*, 1997; Helluy *et al.*, 1993; Harzsch & Dawirs, 1995).

Imunoreatividade à serotonina tem sido identificada no sistema nervoso de diversos crustáceos durante a embriogênese, nos estágios larvais e em indivíduos adultos.

Elofsson (1983), estudando o lagostim *Pacifastacus leniusculus*, encontrou neurônios imunoreativos à serotonina nos três neurópilos do lobo óptico, além de três proeminentes grupos de corpos celulares em torno da medula terminal. No gânglio supra-esofágico imunoreatividade à serotonina foi verificada na ponte protocerebral, corpo central e na porção anterior do protocérebro. No deutocérebro a marcação foi característica principalmente nos agrupamento de corpos celulares inferiores aos lobos olfatórios e seus prolongamento. Nos lobos olfatórios as fibras marcadas formaram camadas atingindo o interior dos glomérulos. No tritocérebro a imunoreatividade à serotonina é restrita aos agrupamentos celulares além de poucas fibras dispersas na região dorsal dos neurópilos antenal e tegumentar.

Um padrão de marcação serotoninérgica semelhante é verificado em diversas outras espécies de crustáceos, como na lagosta *Homarus americanus* (Langworthy *et al.* 1997; Beltz, 1999); no lagostim *Cherax destructor* (Utting *et al.*, 2000) nos camarões marinhos *Farfantepenaeus paulensis* e *Penaeus schmidt* e em camarões de água doce do gênero *Macrobrachium* (Ammar, 2000).

A marcação no gânglio supra esofágico também estende-se ao caranguejo *Cancer antennarius* num estudo realizado por Rudolph & Spaziani (1990) enfatizando as estruturas neurosecretoras do pedúnculo óptico, aonde a imunoreatividade foi verificada em diversas pequenas células envolvendo a medula interna e a medula externa, poucos



neurônios imunoreativos na medula terminal, além de um grande pericário o qual envia seus prolongamentos para o interior da medula terminal sendo que poucos destes neurônios fazem parte do órgão X ganglionar não foi detectada imunomarcção serotoninérgica na glândula do sinus ou no órgão de Bellonci.

Bellon Humbert & Van Herp (1988), demonstraram no pedúnculo óptico do camarão *Palaemon serratus* que a imunomarcção serotoninérgica restringe-se às estruturas denominadas "corpos de cebola" que formam o órgão de Bellonci, tanto durante nos embriões em estágio final do desenvolvimento, quanto nas larvas e nos indivíduos adultos. Estes órgãos na vida embrionária e larval, são encontrados na região dorsal da medula terminal, enquanto nos adultos estão dispostos na região ventral. A imunoreatividade à serotonina detectada no período noturno quando comparada ao período diurno sugerem a atuação da serotonina na integração de funções sensoriais envolvidas na regulação de um ritmo circadiano do órgão de Bellonci.

Na lagosta *Homarus americanus* a qual possui um longo desenvolvimento embrionário, a imunodeteção da serotonina no gânglio cerebral foi verificada muito precocemente nas fibras do protocérebro medial, seguindo-se posteriormente no protocérebro lateral e algumas fibras do tritocérebro, e por último nos neurônios gigantes dorsais do deutocérebro, atingindo na metade do desenvolvimento embrionário marcação serotoninérgica semelhante àquela observada à eclosão e no animal adulto. O padrão de marcação observado principalmente nos neurônio gigantes e nos lobos olfatórios e acessórios, sugerem uma função morfogenética nas taxas de crescimento e de organização glomerular destas estruturas (Beltz et al. 1992).

No lagostim *Cherax destructor*, o qual apresenta desenvolvimento embrionário mais curto que a lagosta *Homarus americanus*, a imunodeteção serotoninérgica também foi verificada inicialmente no protocérebro lateral, porém muito mais tardiamente que em *Homarus americanus*, mas numa progressão bem mais rápida. Nas duas espécies a

glomerulização dos neurópilos do lobo acessório ocorreu somente durante a vida larval, evento que parece dependente da atividade morfogenética da serotonina aliada aos estímulos externos proporcionados pela vida livre (Helluy et al., 1993).

Na larva zoea do braquiurídeo *Hyas araneus*, a imunomarcção serotoninérgica foi verificada ao longo de todo o sistema nervoso central, sendo mais expressiva nas fibras e corpos celulares do gânglio protocerebral. Nesta espécie o desenvolvimento larval prolongado proporcionou um discreto incremento no número de neurônios nos gânglios torácicos e o padrão de marcação torna-se sucessivamente mais denso devido a intensa ramificação dos neuritos (Harzsch & Dawirs, 1995).

Pacheco (2001), estudando as fases finais do desenvolvimento embrionário do camarão de água doce *Macrobrachium olfersii* o qual possui um desenvolvimento embrionário bastante curto (14 dias), evidenciou marcação serotoninérgica apenas nos dois últimos dias do desenvolvimento embrionário em alguns dos corpos celulares que circundam a medula terminal do pedúnculo óptico. Durante o período embrionário não foi verificada marcação serotoninérgica nos gânglios cerebrais deste palemonídeo.

Uma certa homologia pode ser verificada quanto a aquisição do fenótipo serotoninérgico entre os crustáceos (Sandeman & Sandeman, 1990; Elofsson, 1992; Beltz, 1999) bem como diferenças espécie-específicas quanto ao tempo de aparecimento da marcação serotoninérgica, característica esta que pode ser observada entre os insetos.

Na mariposa *Manduca sexta* foi verificada imunodeteção serotoninérgica bem definida, foi verificada nos corpos celulares do cérebro e do cordão nervoso ventral a partir da metade final (60%) do desenvolvimento embrionário (Radwan et al. 1989), enquanto na mosca da fruta *Drosophila melanogaster* imunoreatividade à serotonina foi detectada mais tardiamente (80 e 85%) durante a embriogênese (Vallés & White, 1988).

Boleli & Paulino-Simões (1999) estudando o terceiro estágio larval da mosca da fruta *Anastrepha obliqua*, verificaram imunodeteção serotoninérgica nos corpos

celulares e nas fibras nervosas do cérebro e dos gânglios ventrais, as quais demonstraram um arranjo bilateral com grandes axônios partindo de agrupamentos celulares bem definidos, projetando-se ao gânglio contralateral e estabelecendo grandes campos de fina arborização imunoreativa.

## **O CAMARÃO DE ÁGUA DOCE *MACROBRACHIUM POTIUNA* (MÜLLER, 1880)**

Este palemonídeo quando descrito por Fritz Müller foi chamado de *Palaemon potiuna*, posteriormente recebendo a denominação de *Macrobrachium potiuna*. É uma espécie de pequeno porte, endêmica da fauna brasileira e encontrada desde o estado do Espírito Santo até o Rio Grande do Sul (Gomes-Corrêa, 1977; Bond & Buckup, 1989). Esta espécie desenvolve todo o ciclo de vida em água doce, sendo considerado adaptado ao ambiente dulciaquícola (Moreira et al. 1983).

Na ilha de Santa Catarina, *Macrobrachium potiuna* habita riachos de água cristalina e fundo pedregoso, abrigo-se sob as pedras ou entre a vegetação marginal constituindo importante componente da cadeia trófica de ambiente dulciaquícola. Estudos populacionais e da biologia reprodutiva da espécie descrevem-na como a única representante da família Palaemonidae presente no Poção, localidade de Córrego Grande (Müller & Carpes, 1991), enquanto é encontrada convivendo com outras espécies do gênero *Macrobrachium* em alguns pontos da Bacia hidrográfica de Ratoles, nos quais não é verificada a influência da água salgada (Müller et al. 1999).

Algumas características marcantes podem ser levantadas, com relação à reprodução, ao desenvolvimento embrionário e larval desta espécie. As fêmeas ovígeras carregam poucos ovos de grande volume em sua câmara incubadora (Müller, 1892;



Müller & Carpes, 1991) o que garante um desenvolvimento embrionário longo, quando comparado às demais espécies da família Palaemonidae (Pereira & Garcia, 1995).

Nesta espécie o desenvolvimento larval é do tipo abreviado, em um período de 96 horas os indivíduos sofrem três mudas sucessivas, passando por quatro diferentes fases larvais, apresentando no último estágio morfologia comparável a dos animais adultos (Müller, 1892).

Estudos realizados no Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal-BEG-CCB/ UFSC, descrevem o desenvolvimento do sistema nervoso durante a embriogênese das espécies *Macrobrachium acanthurus* (Bressan, 1997; 1998) e *Macrobrachium olfersii* (Pacheco, 2001), além da morfologia do gânglio cerebral e distribuição dos neurônios serotoninérgicos nos indivíduos adultos no gênero *Macrobrachium* (Ammar, 2000).

Pouco é conhecido sobre o sistema nervoso larval entre os crustáceos principalmente nas espécies da família Palaemonidae. A espécie *Macrobrachium potiana*, a qual apresenta desenvolvimento larval abreviado, oferece como vantagem experimental a possibilidade de obtenção dos estágios larvais num período curto de tempo, viabilizando a execução de um estudo focado na morfologia e nas modificações ocorridas no sistema nervoso durante o desenvolvimento larval.

O conhecimento do sistema nervoso de palemonídeos pode ser ampliado com informações sobre o sistema visual e o sistema neurosecretor desta espécie, em diferentes momentos do seu ciclo de vida. Estes estudos podem oferecer também subsídios teóricos para a pesquisa aplicada, como por exemplo ampliação das técnicas de cultivo através da ablação do pedúnculo e o exame histológico do material neurosecretado, utilizado como biomarcador de poluição ambiental conforme apontado por Fingerman *et al.* (1998).

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL:

Caracterizar a organização do sistema nervoso de larvas, jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna*.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Descrever a organização dos neurópilos do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral de larvas, jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna*.

Descrever a organização dos agrupamentos celulares e tipos celulares do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral de larvas, jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna*.

Descrever a organização do olho composto e a estrutura do sistema neurosecretor do pedúnculo óptico. de larvas, jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna*.

Identificar e analisar a imunomarcção serotoninérgica no pedúnculo óptico e gânglio cerebral de larvas, jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna*.



### 3- MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3. 1-CARACTERIZAÇÃO DA ESPÉCIE

**Filo** Crustacea (Linnaeus, 1754)

**Classe** Malacostraca (Latreille, 1806)

**Subclasse** Eumalacostraca (Grobber, 1892)

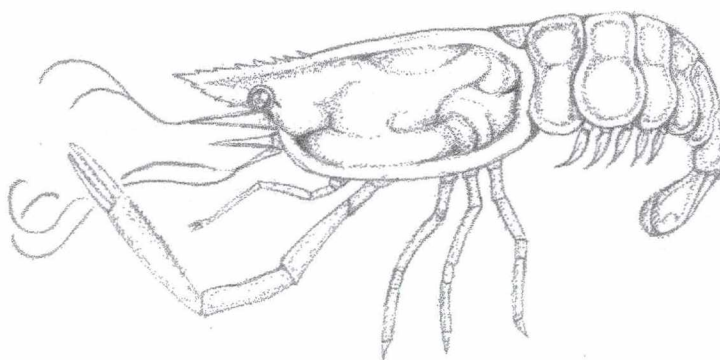
**Ordem** Decapoda (Latreille, 1803)

**Infraordem** Caridae (Dana, 1852)

**Família** Palaemonidae (Rafinesque, 1815)

**Gênero** Macrobrachium (Bate, 1888)

**Espécie** *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880)



**Figura 3.:** Desenho de um indivíduo adulto da espécie *Macrobrachium potiuna*.

### 3.2. OBTENÇÃO DOS ESPÉCIMENS

**3.2.1 Coleta:** Indivíduos jovens e adultos da espécie *Macrobrachium potiuna* foram capturados entre março e novembro de 2001 no Poção, localizado no bairro do Córrego Grande (27°37'30''S) ou num ponto de coleta situado numa propriedade particular na localidade de Ratores (27°28S e 48°30W). Os dois pontos de coleta são exclusivamente de água doce e estão localizados na Ilha de Santa Catarina. A captura era realizada arrastando-se um puça de malha fina (0,5 cm) entre as pedras do fundo ou entre a vegetação marginal.

Após a captura, os indivíduos eram acondicionados em aquário plástico móvel com bomba de ar e transportados às dependências do Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal (BEG/CCB/UFSC).

### 3.3-ANÁLISE E MANUSEIO DOS ESPÉCIMENS

**3.3.1 Acondicionamento em aquário:** os jovens, fêmeas e fêmeas ovígeras capturadas foram acondicionadas em aquários de 50 litros previamente montados, com fundo pedregoso, aeração constante, salinidade de 0‰, mantidos nas condições de iluminação e temperatura do laboratório. Os espécimes foram alimentados diariamente com ração industrializada para peixes.

**3.3.2 Biometria:** O comprimento total dos indivíduos foi obtido com paquímetro, medindo-se da extremidade distal do rostro à extremidade distal do télson,.

**3.3.3 Caracterização dos indivíduos jovens:** foram considerados jovens, os indivíduos que apresentaram comprimento total inferior a 20 mm, considerado-se que a menor fêmea ovígera da espécie *Macrobrachium potiuna* coletada no Poção, mediu 25,4 mm (Müller & Carpes, 1991) e 23 mm em Ratores (Ammar et al. 2000).

**3.3.4 Obtenção das larvas :** fêmeas ovígeras cujos ovos apresentavam os olhos pigmentados, foram acondicionadas separadamente em aquários de 2 litros e acompanhadas diariamente até a eclosão. As larvas recém-eclodidas eram retiradas do aquário com pipeta pasteur sem ponta, e mantidas individualmente em recipiente do tipo Becker de 50 ml, contendo água retirada dos aquários. A água dos recipientes era trocada diariamente e não lhes foi administrada alimentação.

As larvas eram acompanhadas pela manhã e a tarde, buscando-se pela presença de mudas ou de larvas mortas. A confirmação do estágio larval foi realizada ao estereomicroscópio (20X) segundo a descrição de Müller (1892), verificando-se o formato dos olhos e a extremidade distal do abdômen.

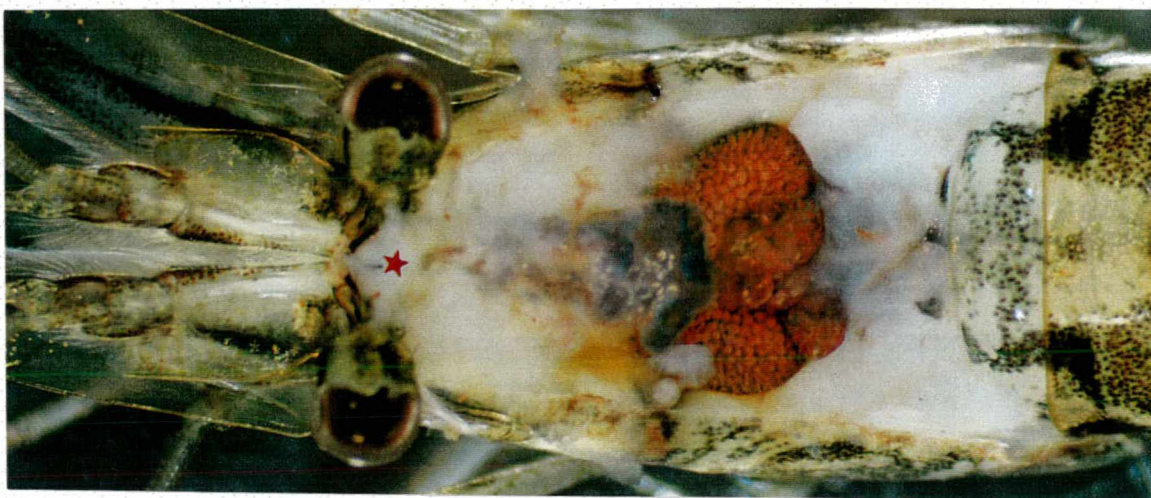
As características morfológicas e comportamentais levantadas neste estudo, foram obtidas à partir da observação das larvas in vivo, sob o microscópio estereoscópico e através de registros em VHS obtidas em vídeo cassete acoplado.

### **3.4. DISSECAÇÃO DO SISTEMA NERVOSO**

Após imobilização por resfriamento a 4°C, as larvas e indivíduos jovens foram seccionados na região média do cefalotórax, lavados em água destilada, fixados em Bouin alcoólico por 24 horas e conservados em álcool 70%.

Nas fêmeas adultas, a carapaça dorsal do cefalotórax foi retirada possibilitando a exposição do gânglio cerebral. Os pedúnculo ópticos foram seccionados em sua extremidade proximal, seguindo-se a realização de pequenos orifícios na lente cuticular que recobre os olhos compostos, facilitando a penetração do fixador. Os gânglios cerebrais e pedúnculos ópticos foram lavados com água destilada, fixados em Bouin alcoólico por 14 horas e conservados em álcool 70 %.





**Figura 4:** Abertura da carapaça dorsal do cefalotórax e exposição das vísceras e do gânglio cerebral (\*) de uma fêmea da espécie *Macrobrachium potiuma*.

Duas ou três trocas do álcool 70% foram necessárias para a remoção do excesso da solução fixadora. Uma semana após a fixação, foi realizada uma dissecação mais minuciosa ao microscópio estereoscópio (40x), retirando-se os tecidos que envolvem os gânglios cerebrais das larvas, jovens e fêmeas adultas. Nestas últimas, seguiu-se a extração da carapaça quitinosa que recobre o pedúnculo óptico. Estes procedimentos foram executados após fixação e conservação, devido a fragilidade das estruturas e dificuldade de manipulação a fresco.

### 3.5. PREPARO HISTOLÓGICO

**3.5.1 Impregnação e Inclusão:** as estruturas neurais fixadas e conservadas em etanol 70%, foram desidratadas em banhos de 15 minutos para as larvas, jovens e pedúnculo ópticos de adultos e 10 minutos para o gânglio cerebral das fêmeas adultas, numa sequência crescente do álcool 70% até o álcool absoluto, repetindo-se o último banho, seguindo-se da lavagem das peças em álcool/xilol 1:1, diafanização em dois

banhos de xilol por aproximadamente 5 minutos e inclusão em 3 banhos de 30 minutos em paraplast em estufa a 59°C.

Os pedúnculos ópticos e gânglios cerebrais das larvas e jovens foram mantidos em uma peça única enquanto nas fêmeas adultas, o gânglio cerebral e os pedúnculos ópticos foram incluídos separadamente.

A orientação das estruturas no paraplast foi realizada sob placa quente, priorizando o plano de corte.

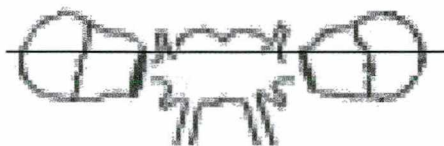
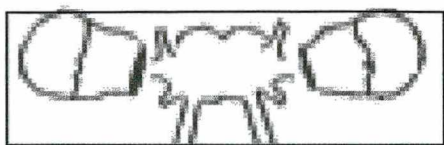
**3.5.2 Corte histológicos:** as estruturas incluídas em paraplast foram seccionadas em micrótomo rotativo, obtendo-se seções seriadas com espessura de 7 µm ou 10µm para as técnicas histológicas e procedimento imunohistoquímico. As seções foram aderidas em lâminas de vidro previamente albuminizadas.

De cada estrutura incluída em paraplast, foram confeccionados conjuntos de cinco lâminas-réplicas distribuindo-se a sequência das seções em cinco lâminas. Desta forma todas as seções foram aproveitadas, embora a sequência das seções de cada lâmina fosse alternada. Das cinco lâminas, três foram utilizadas para técnicas histológicas e duas para procedimento imunohistoquímico.

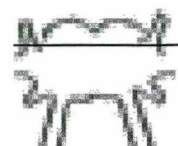
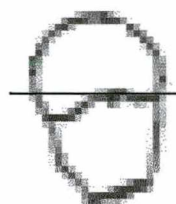
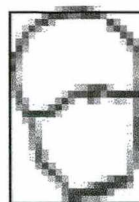
Foram obtidas seções dos gânglios cerebrais e pedúnculo ópticos das larvas, jovens e adultos nos plano frontal e transversal conforme figura 3.



a



b



**Figura 5:** Planos de corte adotados para os indivíduos de *M. potiuna* a) Plano frontal e transversal para os indivíduos na fase larval e juvenil b) Plano de corte do pedúnculo óptico e gânglio cerebral de adultos, frontal (superior) e transversal (inferior)

**3.5.3 . Coloração das Seções:** Para a realização da coloração histológica e marcação imunohistoquímica, as seções foram desparafinizadas em dois banhos de 5 minutos em xilol, seguido da lavagem em álcool/xilol 1:1, e hidratação numa sequência decrescente com banhos de 3 a 4 minutos do álcool absoluto ao álcool 70 %, repetindo-se o etanol absoluto, e levados até a água destilada.

Seguindo-se os procedimentos de desparafinização e hidratação, as seções das estruturas neurais das larvas jovens e adultos foram submetidas à coloração histológica segundo os seguintes protocolos:

**HEMALÚMEN-EOSINA** (Beçak & Paulete, 1976): após a lavagem em água destilada, as seções foram coradas pela hematoxilina de Harris por 1 minuto; lavadas em água de torneira por 10 minutos e enxaguadas em água destilada; seguidos por coloração em eosina por 45 segundos e enxágüe em água destilada.

Após a coloração foram desidratadas em série etanólica crescente, do álcool 70% ao álcool absoluto, com banhos de 5 minutos, repetindo-se o álcool absoluto, seguidos

de um banho em álcool/xilol, diafanização em dois banhos de 5 minutos em xilol e montagem com lâminula em Bálsamo do Canadá.

*AZUL DE TOLUIDINA 5%* - técnica para demonstração das células nervosas em invertebrados (Altman & Bell, 1973). Após lavação por 15 minutos em água destilada, as seções foram incubadas por 10 minutos em Solução de azul de Toluidina 5% previamente aquecida a 60°, lavadas em água destilada por 5 minutos e por 1 minuto em água de torneira. Após a coloração foram desidratadas em série alcoólica crescente, do álcool 70% ao álcool absoluto, com banhos de 5 minutos, repetindo-se o álcool absoluto, seguidos de um banho em álcool/xilol, diafanização em dois banhos de 5 minutos em xilol e montagem com lâminula em Bálsamo do Canadá.

*CROMO-ALÚMEN-HEMATOXILINA FLOXINA DE GOMORI (CAHF)*(Beçak & Paulete, 1976; Denk, *et al.* 1989): após a lavação dos cortes em água destilada, as seções foram oxidadas por 1 minuto numa solução de permanganato de potássio À temperatura ambiente, clarificadas numa solução de bissulfito de sódio até perder a cor; lavadas em água corrente por 2 minutos, coradas pela hematoxilina crômica de Gomori por 10 minutos; diferenciadas por aproximadamente 1 minuto em álcool clorídrico a 1%; lavadas em água corrente até que os cortes ficassem azul-claro, contracoradas por 5 minutos numa solução de Floxina B a 0,5%, enxaguadas em água destilada, transferidas para uma solução aquosa de ácido fosfotúngstico a 5% por 1 minuto, lavadas em água corrente por 5 minutos e diferenciadas em álcool 95% e 80 % seguidos da desidratação numa série alcoólica crescente do 70 % até o 100%, com banhos de 5 minutos, repetindo-se o álcool absoluto, lavação em álcool/xilol, diafanização em dois banhos de 5 minutos em xilol e montagem com lâminula em bálsamo do Canadá.

### 3.6. PREPARO IMUNOHISTOQUÍMICO

As seções dos pedúnculos ópticos e cérebro das larvas, jovens e fêmeas adultas foram preparados para a imunohistoquímica como descrito nos itens 3.5.1 e 3.5.2.

Após desparafinização dos cortes em dois banhos de 3 minutos em xilol, lavação em álcool/xilol 1:1; e hidratação numa série alcoólica crescente do álcool absoluto ao álcool 70%, com banhos de 3 minutos e repetição do primeiro banho, seguido pela lavação em água destilada por 15 minutos, as seções foram submetidas ao protocolo de imunohistoquímica com anticorpo anti-serotonina conforme descrito por Ammar (2000).

- Lavagem das seções em um banho de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) a 2% por 15 minutos, seguido por dois banhos de 10 minutos em TBS (solução salina tamponada) e um banho de 15 minutos em TBS/Triton X-100 1% (TBST).
- Inativação dos sítios inespecíficos em solução bloqueadora (soro de cabra 5%, leite em pó desnatado a 5 % em TBST).
- Incubação no anticorpo primário contra serotonina (Sigma Chemical, Saint Louis - anti-coelho policlonal) diluído em solução bloqueadora (1:100) por 16 horas a temperatura de 4°C (overnight em geladeira).
- Lavagem das seções em um banho de 15 minutos em TBST seguidos de dois banhos sucessivos de 10 minutos em TBS.
- Incubação das seções no anticorpo secundário conjugado com peroxidase (Sigma Chemical, Saint Louis- cabra anti-coelho) diluído em solução bloqueadora (1:300) por 2 horas.
- Lavagem das seções em três banhos sucessivos de 10 minutos em tampão TBS.



- Revelação das seções com DAB (3'3 Diaminobenzidina - KIT Sigma Chemical) em temperatura ambiente por tempo suficiente até que os cortes estivessem marcados, bloqueando-se a reação com água destilada.
- Desidratação das seções em série alcoólica crescente (70 ao 100%) com banhos de 3 minutos, lavação em álcool/xilol (1:1) e diafanização em 2 banhos de 5 minutos em xilol seguidos pela montagem com lâminula em bálsamo do Canadá.

Estudos anteriores realizados no Laboratório de Reprodução e Desenvolvimento Animal por Ammar (2000) e Pacheco (2001) utilizando anticorpo contra serotonina no sistema nervoso de crustáceos, testaram e comprovaram a especificidade do anticorpo.

**3.6.1. Controle negativo da especificidade:** Visando identificar se imunoreatividade à serotonina não ocorreu devido a ligações não específicas do anticorpo primário, foi adotado como controle negativo a realização do protocolo para imunohistoquímica descrito acima, porém omitindo-se a incubação com o anticorpo primário e substituindo-o por TBS.

Nenhuma marcação positiva foi observada nos indivíduos controles onde o anticorpo primário foi substituído pela solução tampão TBS.

### 3.7. ANÁLISE DAS LÂMINAS

As lâminas foram analisadas ao microscópio óptico para a determinação da morfologia do sistema nervoso.

**3.7.1 Determinação da posição dos agrupamentos celulares:** este procedimento foi realizado observando-se toda a sequência de cortes seriados, no sentido dorso ventral

nas seções frontais e de ântero posterior nos cortes transversais. A posição dos agrupamentos celulares nas fêmeas adultas foi representada em desenho esquemático obtido na câmara clara (1,25X) com aumento de 10 X e sobrepondo-os para verificação do todo.

**3.7.2 Identificação e medida dos tipos celulares:** Os corpos celulares foram identificados segundo características morfológicas do núcleo e do citoplasma associadas às suas medidas.

As características morfológicas do núcleo e citoplasma foram avaliadas ao microscópio óptico numa ocular de 10 X conjugada com objetiva de 40 e 100X (aumento de 400 e 1000 X).

A morfometria dos corpos celulares foi realizada medindo-se 15 células de cada tipo celular, obtendo-se os eixos transversal e longitudinal do citoplasma e do núcleo com uma ocular micrométrica acoplada ao microscópio óptico num aumento de 400 X.

### 3.8 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS:

Algumas características larvais *in vivo* como o formato dos olhos, quantidade de vitelo verificado através da carapaça transparente, e organização da extremidade distal do abdômen nos três estágios larvais, foram fotografadas com aparelho fotográfico acoplado ao estereomicroscópio.

Para a confecção de fotografias em sistema fotográfico acoplado ao microscópio óptico, foram selecionadas as lâminas que melhor apresentavam a organização microanatômica do sistema nervoso e das estruturas marcadas pela serotonina, enfatizando os agrupamentos de corpos celulares nos indivíduos na fase larval, juvenil e adulta.

## 4 . RESULTADOS

### 4.1. Caracterização do Desenvolvimento Larval

O acompanhamento do desenvolvimento larval do camarão de água-doce *Macrobrachium potiuna*, permitiu a descrição de três estágios larvais.

A partir da eclosão da larva livre, reconhece-se o primeiro estágio, no qual as larvas analisadas apresentaram comportamento bêntico, permanecendo apoiadas sobre um dos pares de pereiópodos, enquanto realizam um batimento intenso dos demais.

Os olhos laterais são sésseis (fig.6a), o rostro é pequeno, curvado inferiormente e desprovido de dentes. Sob a carapaça transparente se observou que o vitelo ocupa praticamente toda a extensão do cefalotórax.

Os cinco pares de apêndices abdominais estão presentes e a extremidade do segmento distal do abdômen apresenta-se como uma peça única, arredondada e com cerdas na margem distal (fig.6b). Neste estágio, as larvas quando estimuladas, locomovem-se realizando flexões vigorosas do abdômen em direção à extremidade anterior do corpo.

Aproximadamente 5 horas após a eclosão as larvas sofrem uma muda atingindo o segundo estágio no qual apoiam-se sobre os três últimos pares de pereiópodos, ou

rastejam pelo fundo do recipiente através de batimentos intensos dos apêndices abdominais.

Os olhos estão destacados e proeminentes em relação ao cefalotórax (fig. 7a), o rostro ainda é curto, porém mais retilíneo e apresenta alguns dentes.

O vitelo ocupa cerca da metade da extensão do cefalotórax e na extremidade lateral do segmento distal do abdômen, podem ser observadas as delimitações do futuro télson e dos urópodos (fig. 7b).

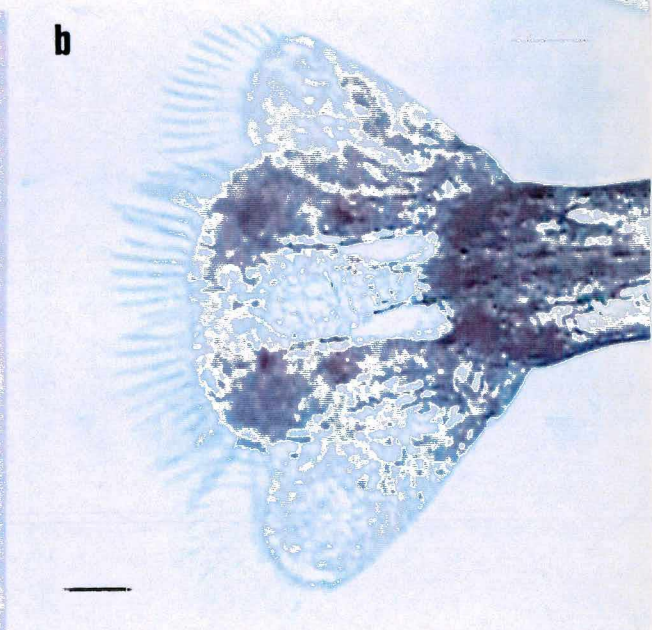
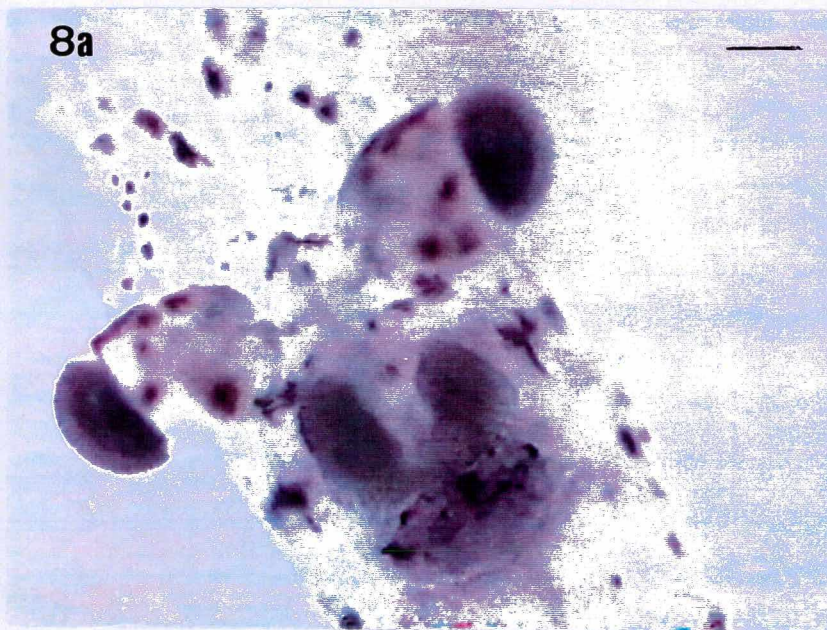
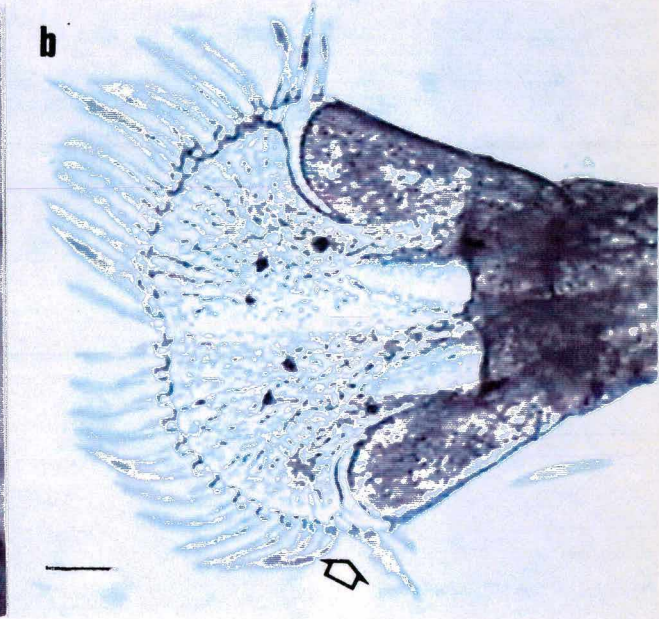
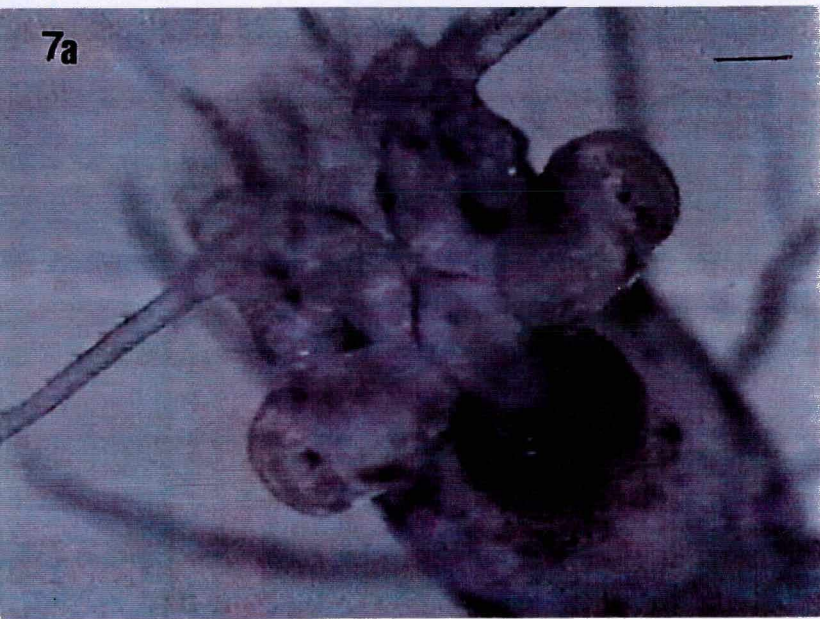
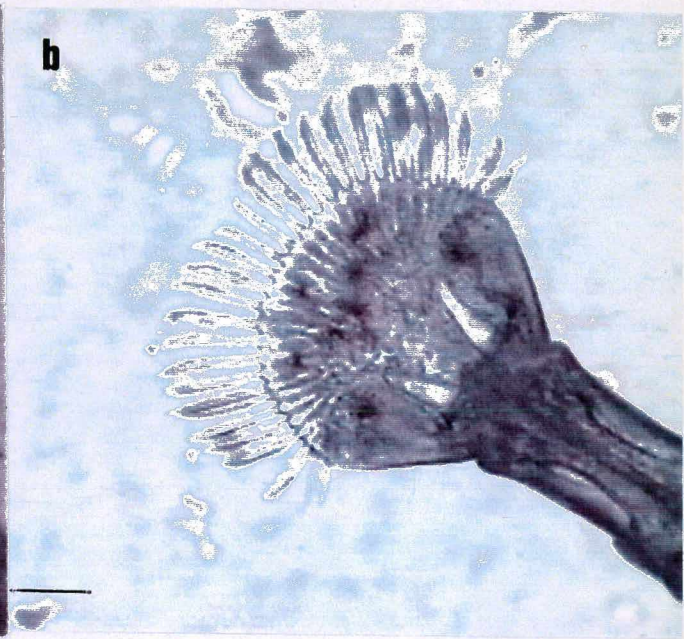
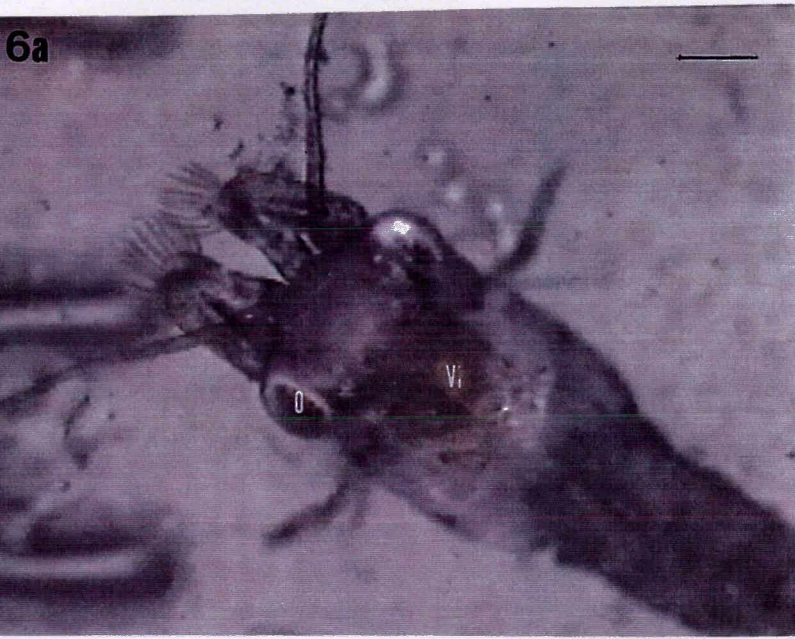
A segunda muda ocorre aproximadamente 48 horas após a eclosão caracterizando o início do terceiro estágio larval.

Os olhos das larvas deste estágio são pedunculados e móveis (fig. 8a), assim como os dois primeiros pares de pereiópodos, os quais são quelados. O rostro é mais longo e semelhante ao dos animais adultos apresenta 5 ou 6 dentes além de alguns espinhos. O vitelo ocupa aproximadamente um terço da região superior do cefalotórax. Nesta fase observa-se um grande número de cromatóforos distribuídos por todo o corpo da larva.

A extremidade do segmento distal do abdômen está diferenciada em télson e urópodos, o primeiro ocupa uma posição central, enquanto os urópodos são laterais (fig. 8b).

As larvas neste último estágio larval rastejam ativamente sob o fundo ou nadam até a superfície da água, apresentando comportamento exploratório bastante semelhante ao dos indivíduos jovens.







## 4. 2 Organização do Sistema Nervoso Larval

### 4.2.1 Primeiro Estágio Larval

No primeiro estágio larval, podem ser reconhecidos nos pedúnculos sésseis, os olhos compostos caracterizados por um conjunto de omatídios e quatro neurópilos envolvidos por corpos celulares (fig.9).

No gânglio cerebral os neurópilos do protocérebro, deutocérebro e tritocérebro apresentam-se relativamente fundidos quando comparados aos neurópilos do pedúnculo óptico. Os corpos celulares dispostos na periferia dos neurópilos, formam uma área cortical que pode ser subdividida segundo a região em que se encontram.

#### OS OLHOS COMPOSTOS

Na figura 9 os componentes do olho composto são facilmente identificados.

Em cada omatídeo é possível reconhecer uma lente cuticular recobrindo dois pares de lentes corneais cujos núcleos são grandes e arredondados, sobrepostas a um cone cristalino curto.

Abaixo dos cones cristalinos e separados pelo pigmento distal, é possível observar a região da retina. Esta última é composta por rabdomas alongados, posicionados lado a lado com as células retinulares cujos núcleos são fusiformes e dispostos ao longo da extensão da retina.

Nas extremidades da região da retina, observa-se agrupamento de pequenas células arredondadas, caracterizando uma provável área de proliferação celular omatideal.

Um conjunto de células pigmentares encontra-se posicionado inferiormente à membrana basal, cujas células são entremeadas pelos prolongamentos das células

sensoriais da retina, partindo na direção do primeiro neurópilo do lobo óptico denominado de lâmina ganglionar.

### OS PEDÚNCULOS ÓPTICOS

A lâmina ganglionar com formato de uma "semi-lua" está posicionada lateralmente em relação aos demais neurópilos. Na sequência, verifica-se a medula externa que apresenta um formato reniforme. A medula interna é o terceiro e último neurópilo do lobo óptico, e apresenta-se como uma cúpula convexa, deslocada lateralmente, cuja margem inferior apresenta uma grande área de contato com a margem superior da medula terminal (fig. 10).

Os neurópilos do lobo óptico, lâmina ganglionar, medula externa e medula interna são ligados entre si e apresentam suas fibras dispostas longitudinalmente umas às outras, seguindo o padrão de organização fasciculada das células retinianas.

Abaixo da medula interna encontra-se a medula terminal, maior neurópilo do pedúnculo óptico, o qual apresenta-se como uma grande massa de fibras nervosas sem padrão de organização definido. Neste primeiro estágio larval, as medulas terminais dos pedúnculos ópticos apresentam-se bastante próximas.

Nos cortes superficiais, é possível observar que os corpos celulares dispõem-se na periferia dos quatro neurópilos, organizados em camadas cuja células apresentam morfologia e tamanho bastante semelhantes. Em cortes mais medianos verifica-se uma certa regionalização dos corpos celulares dispostos em torno da medula terminal.

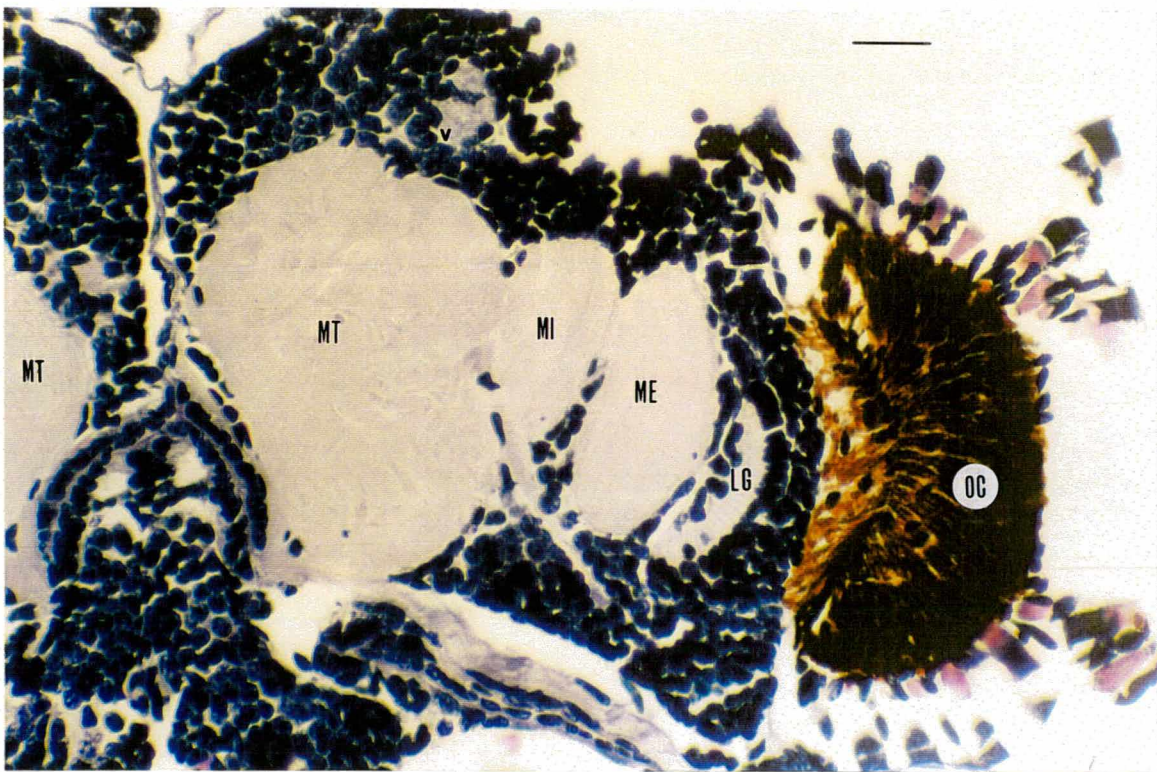
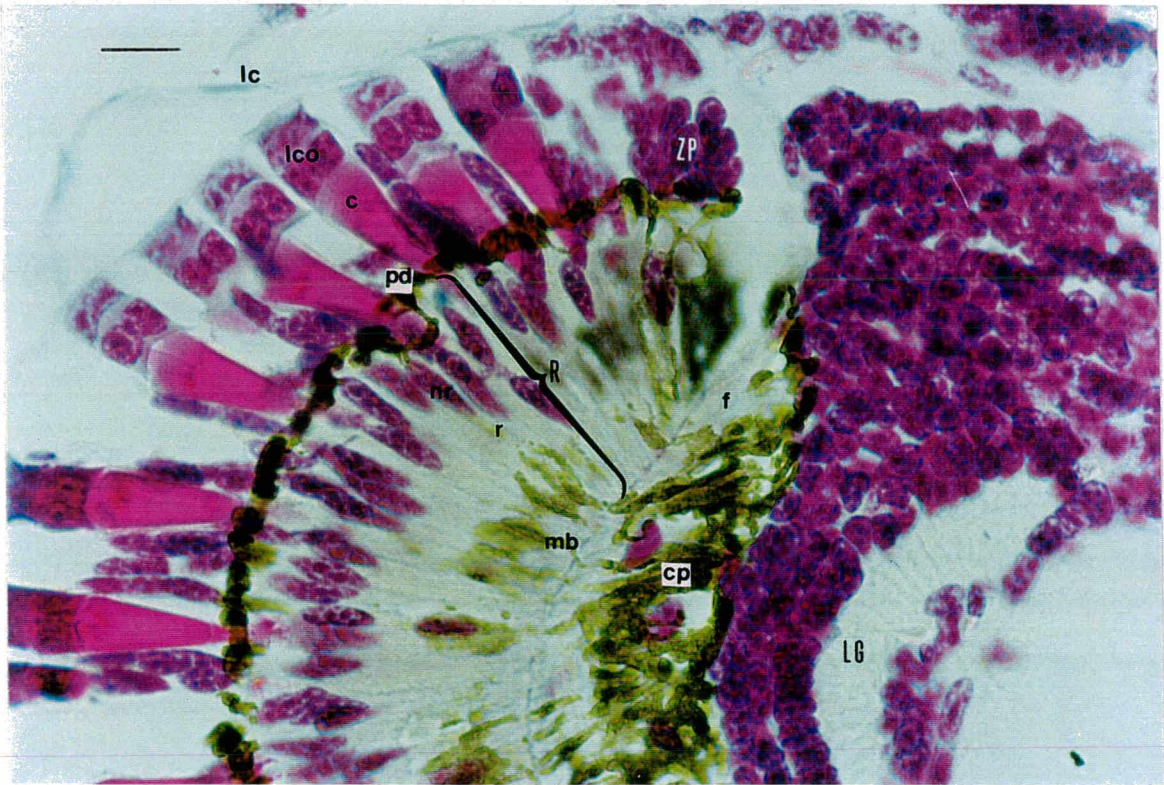
Entre os corpos celulares que circundam a medula terminal, na região medial dos pedúnculos, podem ser identificados cerca de 5 ou 6 vacúolos circulares.

Os corpos celulares que envolvem a medula terminal apresentam tamanho médio de  $10,43\mu\text{m}(\pm 0,47) \times 9,30\mu\text{m}(\pm 0,74)$ , enquanto os que circundam os demais neurópilos medem  $8,64\mu\text{m}(\pm 1,46) \times 7,16\mu\text{m}(\pm 1,47)$ . Um neurônio gigante medindo  $22,26\mu\text{m} \times$

18,7 $\mu$ m com núcleo esférico central medindo 12,5 $\mu$ m é observado entre os grandes corpos celulares da região lateral da medula terminal acompanhando o trato nervoso da glândula sinus; a glândula sinus não foi identificada neste estágio larval entre os indivíduos estudados.

Na larva de olhos sésseis, os pedúnculos ópticos apresentam-se em um plano mais dorsal que o gânglio cerebral, o qual está posicionado abaixo da espessa camada de vitelo. Este fato dificulta em cortes frontais a visualização da saída do trato protocerebral da base da medula terminal e sua ligação com o gânglio cerebral.







### O GÂGLIO CEREBRAL

O gânglio cerebral apresenta um formato semelhante as "asas de uma borboleta", cujo eixo transversal ( $ET=46,86\mu m$ ) é maior que o longitudinal ( $EL=31,02\mu m$ ); os corpos celulares enviam seus neuritos para o interior dos neurópilos, dando ao conjunto o formato de uma seta (fig 11).

O agrupamento medial anterior mostra-se contínuo aos outros agrupamentos. Em algumas regiões é possível observar que a expansão das camadas celulares forma lobos arredondados como no caso do par de agrupamentos dorsais anteriores (fig.12).

Quando observada a sequência dos neurópilos do gânglio cerebral, do sentido anterior para posterior, verifica-se o par de neurópilos protocerebrais mediais anteriores ligados pela ponte cerebral em formato de "v", seguido pelo par de neurópilos protocerebrais mediais posteriores. O corpo central, constituído por fibras nervosas de diferentes espessuras apresenta-se interposto longitudinalmente entre os neurópilos protocerebrais mediais anteriores e posteriores.

A região de cruzamento do trato globular-olfatório parte dos lobos olfatórios/acessórios e cruza a linha mediana em direção aos neurópilos do protocérebro lateral. O neurópilo medial da antênula está localizado na região caudal mediana do gânglio cerebral, posicionado medialmente à emergência do conectivo esofageal.

O conectivo esofageal, responsável pela ligação do gânglio cerebral ao cordão nervoso ventral, apresenta-se como dois feixes descontínuo de fibras, disposto paralelamente um de cada lado do esôfago.

Os neurópilos do gânglio cerebral, apresentam-se fundidos bilateralmente e no sentido ântero-posterior, podendo-se observar poucos corpos celulares, provenientes do agrupamento ventral medial, entre os neurópilos protocerebrais mediais anteriores e os neurópilos protocerebrais mediais posteriores e entre as fibras que compõem o neurópilo medial da antena.

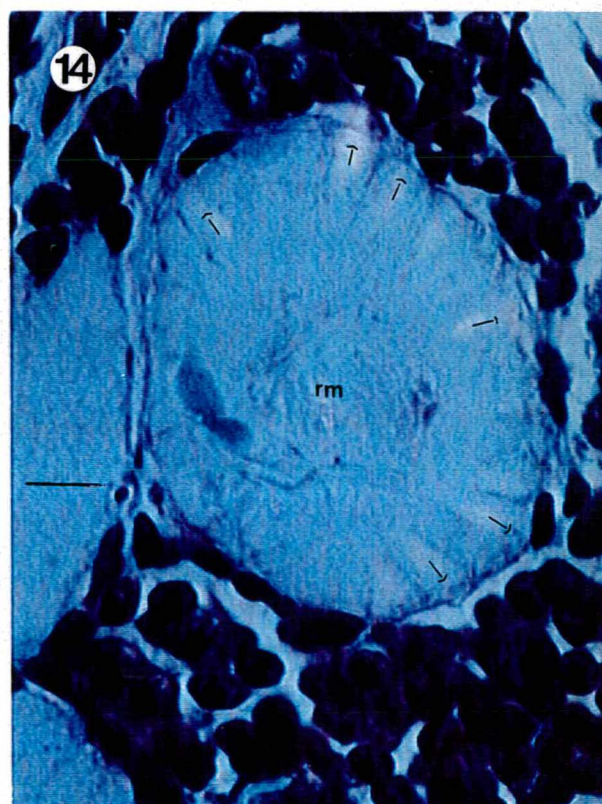
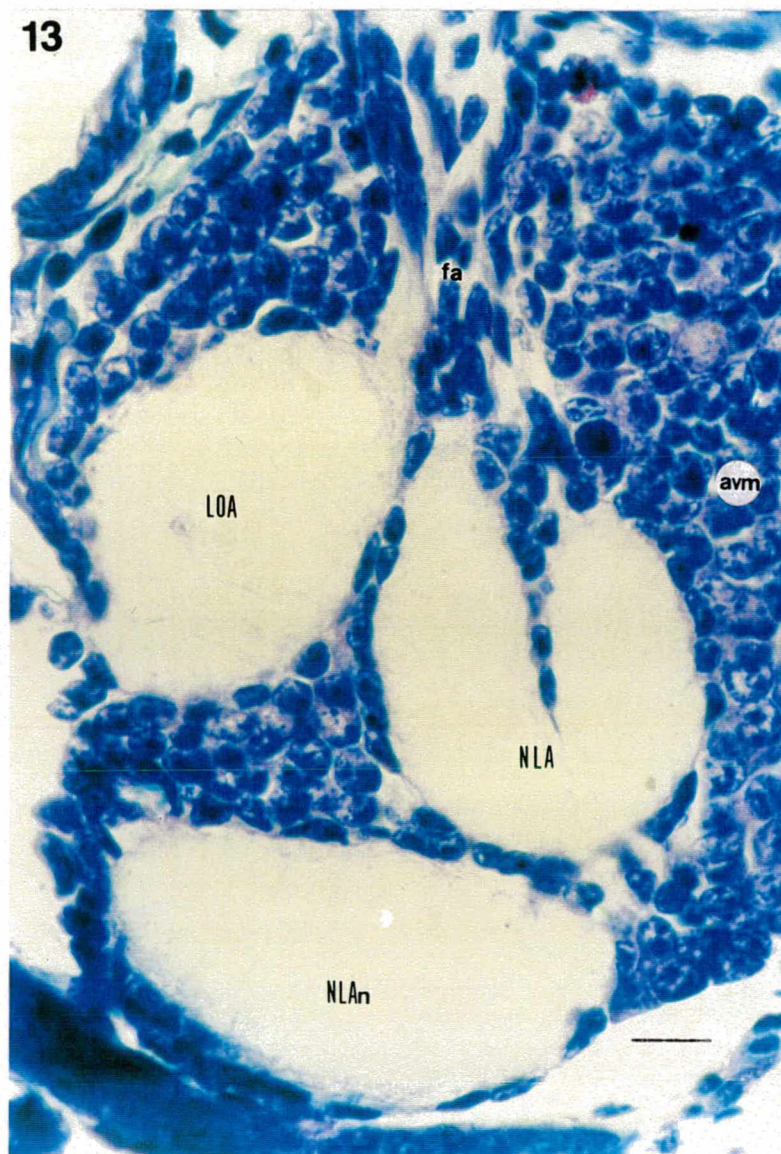
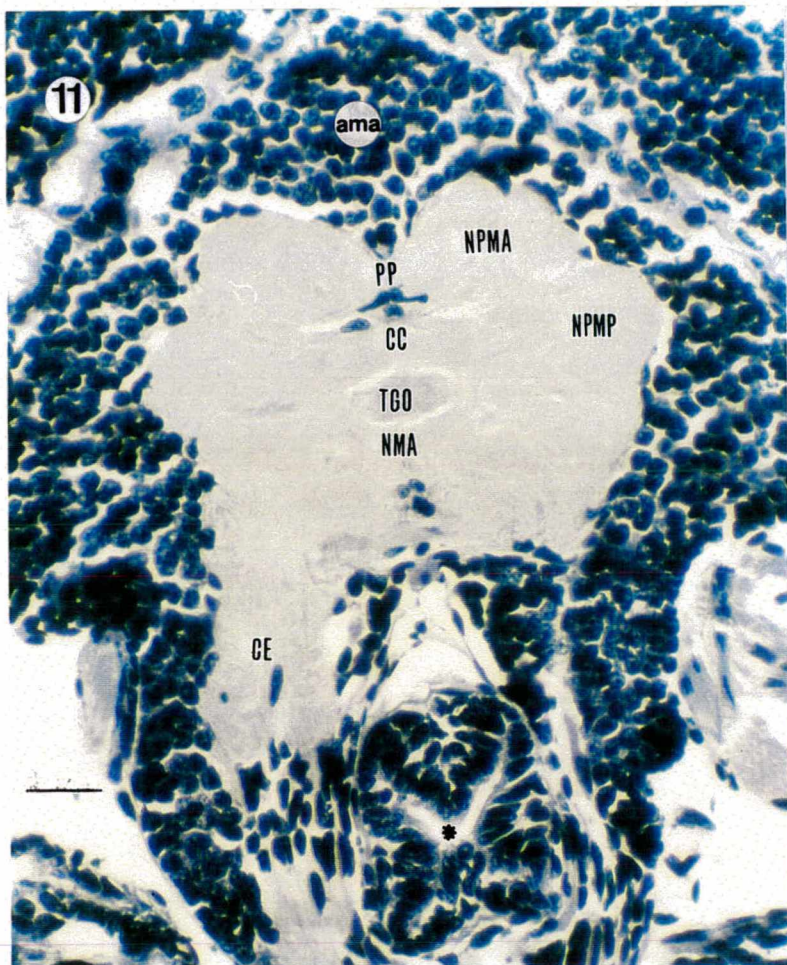
Grande parte da face ventral do gânglio cerebral é ocupada pelos corpos celulares do agrupamento ventral medial, onde estão presentes diversos neurônios de grande tamanho medindo de 11,024 até 16,65 $\mu$ m (média 14,53 $\mu$ m  $\pm$ 2,21 $\mu$ m) X 7,208 $\mu$ m até 13,356 (média 12,81 $\mu$ m  $\pm$ 1,87 $\mu$ m). Estas células apresentam núcleo central ou levemente excêntrico medindo de 9,11 $\mu$ m a 12,508 (média 10,64 $\mu$ m  $\pm$ 1,13 $\mu$ m) X 8,48 $\mu$ m a 11,66 $\mu$ m (média 9,50  $\pm$ 1,29). Na região lateral do agrupamento ventral medial estão dispostos os neurópilos do deutocérebro e tritocérebro (fig 13).

Neuritos do agrupamento ventral medial partem na direção dos lobos olfatórios e acessórios e dos neurópilos laterais das antênulas. Longos e esparsos prolongamentos nervosos são verificados entre as antênulas e os neurópilos laterais das antênulas.

No primeiro estágio larval de *M. potiuna* os lobos olfatório e acessório são fundidos, reconhecendo-se no centro uma região medular formada por feixes de fibras em direção de cada um dos lobos. O conjunto formado pelos lobos olfatório e acessório apresenta organização neuropilar glomerular (fig. 14).

O neurópilo da antena (fig.13) é o mais distal dos neurópilos do gânglio cerebral, disposto perpendicularmente entre os neurópilos laterais da antênula e o esôfago, e ventralmente ao conectivo esofageal.







#### 4.2.2 Segundo Estágio Larval

A larva de *Macrobrachium potiuna* no segundo estágio, apresenta os olhos destacados e bastante proeminentes em relação ao corpo. A organização do gânglio cerebral é muito semelhante ao descrito no primeiro estágio, porém os neurópilos do pedúnculo óptico sofreram uma grande alteração em sua disposição espacial.

##### OS OLHOS COMPOSTOS

Os omatídeos dos olhos compostos apresentam a mesma organização celular, nas extremidades da retina ainda são verificadas regiões de proliferação omatideal

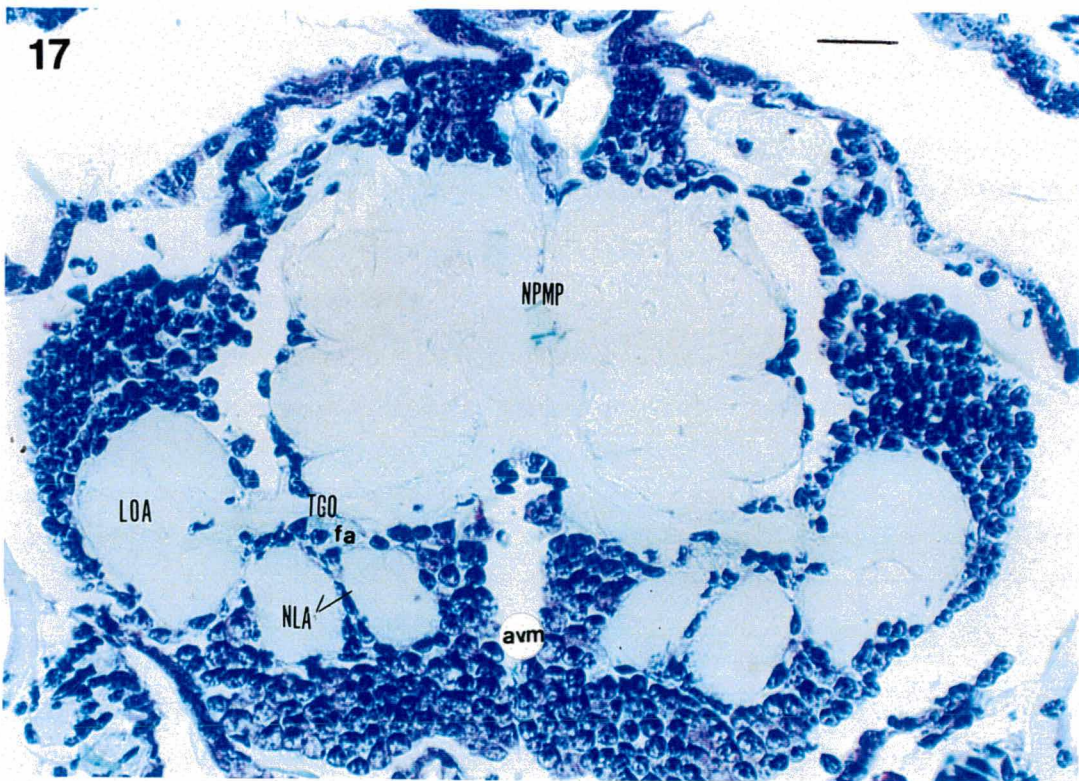
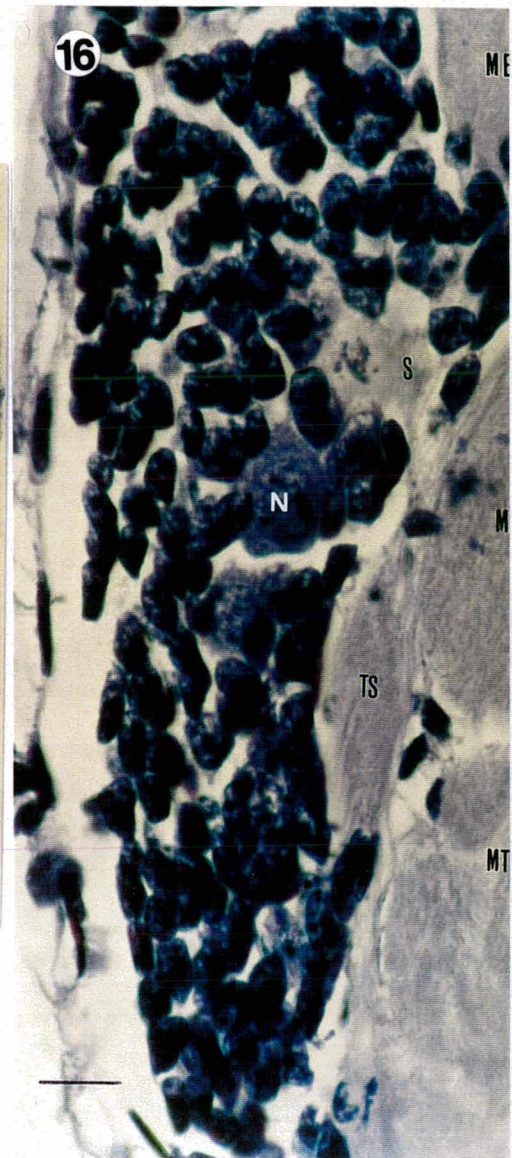
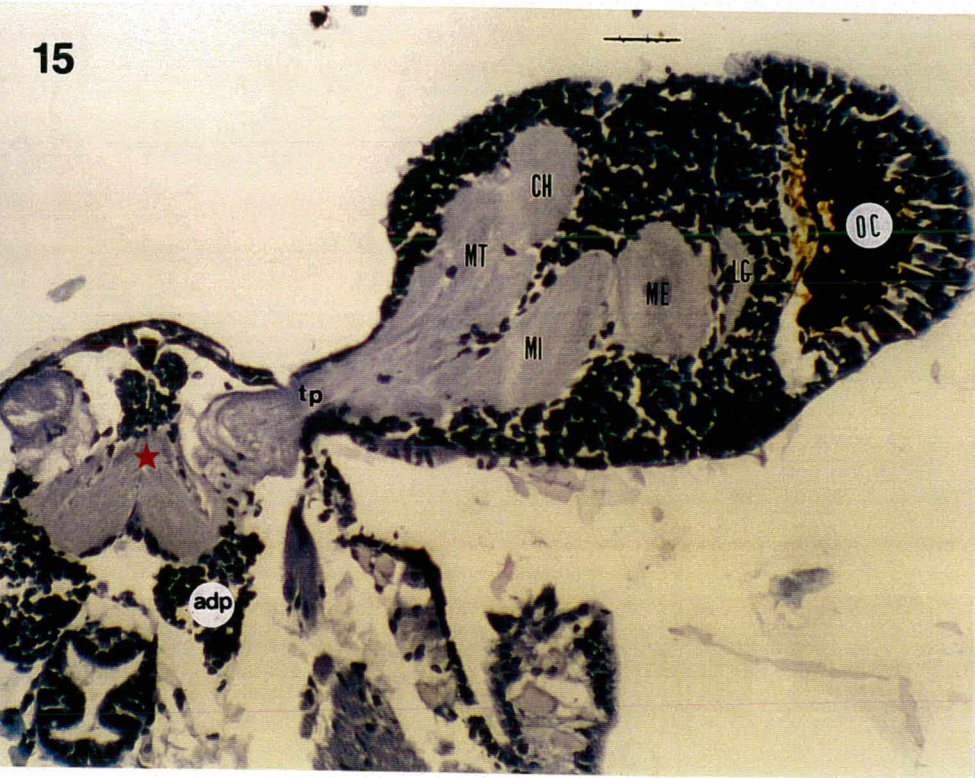
##### OS PEDÚNCULOS ÓPTICOS

Nos pedúnculos ópticos, os corpos celulares formam ainda uma camada na periferia dos neurópilos.

A lâmina ganglionar, mostra-se alinhada com os demais neurópilos. A medula externa apresenta o formato globular, a medula interna, está mais alongada e inclinada em relação aos demais neurópilos enquanto a medula terminal apresenta-se mais adelgada (fig 15).

A medula terminal em sua região lateral apresenta-se como um emaranhado de fibras nervosas contínuo aos demais neurópilos, enquanto de sua região medial evidencia-se a presença do corpo hemielipsóide como uma continuação da medula terminal. Estes dois neurópilos compõem o protocérebro lateral.







Na região lateral do pedúnculo óptico (fig. 16), observa-se entre os corpos celulares que circundam a medula terminal a presença de um feixe espesso de fibras atingindo o limite superior da medula interna, caracterizando o trato nervoso da glândula sinus e os rudimento da glândula sinus. Entre os corpos celulares que enviam seus prolongamentos ao trato da glândula sinus, destaca-se um neurônio gigante com núcleo central proeminente ( $16,28\mu\text{m} \times 13\mu\text{m}$ ) e citoplasma abundante ( $24,2\mu\text{m} \times 22\mu\text{m}$ ).

No segundo estágio larval, embora ainda exista considerável quantidade de vitelo, a liberação dos pedúnculos ópticos permite a visualização da saída do espesso trato protocerebral da base da medula terminal (fig. 15) e sua entrada no gânglio cerebral, através dos neurópilos protocerebrais mediais anteriores.

### O GÂNGLIO CEREBRAL

A morfologia dos neurópilos do gânglio cerebral apresenta-se muito semelhante àquela observada no primeiro estágio. O conjunto formado pelos neurópilos mantém o formato de uma borboleta, medindo em seu eixo transversal  $51,26\mu\text{m}$  e  $33,66\mu\text{m}$  em seu eixo longitudinal.

Os corpos celulares forma uma camada celular contínua que envolve os neurópilos, semelhante ao verificado no primeiro estágio. Os lobos arredondados formados por extensões das camadas de corpos celulares, agora apresentam-se mais alongados, conforme verificado no agrupamento dorsal posterior. O agrupamento medial anterior está mais organizado que no primeiro estágio, limitado entre o espesso trato protocerebral e os neurópilos protocerebrais mediais anteriores, os quais apresentam-se mais desenvolvidos.

A comissura deutocerebral é discreta, enquanto o trato globular olfatório é bastante evidente partindo dos lobos olfatório/acessórios (fig. 17). O feixe de fibras

nervosas que parte das antênulas em direção aos neurópilos deutocerebrais visualizado no primeiro estágio, constitui neste estágio uma região mais delimitada.

#### 4.2.3 Terceiro Estágio Larval

A organização das estruturas neurais do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral no último estágio larval da espécie *M. potiuna* é muito semelhante àquela observada no segundo estágio larval; sendo o formato e a disposição neuropilar bastante semelhante ao do adulto.

### OS OLHOS COMPOSTOS

A estrutura omatideal dos olhos compostos, relembra àquela observada nos dois estágios anteriores sendo ainda verificadas as regiões de proliferação celular omatideal nas extremidades dos olhos compostos.

### O PEDÚNCULO ÓPTICO

Os neurópilos do pedúnculo óptico não apresentam mais a característica adelgada do segundo estágio e estão mais alinhados entre si, formando um eixo central que ocupa uma grande área do pedúnculo óptico.

Os quiasmas de fibras nervosas que ligam a lâmina ganglionar à medula externa e esta última à medula interna estão mais estruturados e evidentes, o corpo hemielipsóide apresenta-se mais arredondado que no segundo estágio.



### O GÂGLIO CEREBRAL

O gânglio cerebral sofreu uma inclinação, tornando-se levemente perpendicular ao pedúnculo óptico, impossibilitando a visualização do gânglio cerebral em toda sua extensão.

Não foram observadas alterações na disposição dos corpos celulares e dos neurópilos; exceto pelo espessamento dos feixes nervosos principalmente da comissura deutocerebral e do trato globular olfatório.

### IMUOREATIVIDADE À SEROTONINA NO PERÍODO LARVAL

Nos três estágios larvais de *M. potiuna*, a marcação serotoninérgica foi verificada ao redor do esôfago e na carapaça que recobre o corpo, além de um sítio de marcação bem característico no pedúnculo óptico. No gânglio cerebral a marcação serotoninérgica só foi evidenciada à partir do segundo estágio larval.

No primeiro estágio larval um sítio de imunoreatividade á serotonina é verificado na periferia da região medial dos pedúnculos ópticos, entre os pericários que envolvem a medula terminal. Este sítio é composto por aproximadamente 30 corpos celulares que apresentaram o citoplasma intensamente marcado pelo anticorpo anti-serotonina (fig. 18a).

No segundo estágio larval, o sítio de marcação do pedúnculo óptico ocupa uma posição mais medial que no primeiro estágio. A marcação serotoninérgica foi evidenciada no citoplasma de aproximadamente 35 corpos celulares que envolvem a medula terminal, logo acima do corpo hemielipsóide (fig.18b) e nas proximidades dos vacúolos circulares.

No terceiro estágio larval o sítio de imunodeteção serotoninérgica (fig. 18c) do pedúnculo óptico é semelhante a aquele observado no segundo estágio, porém em

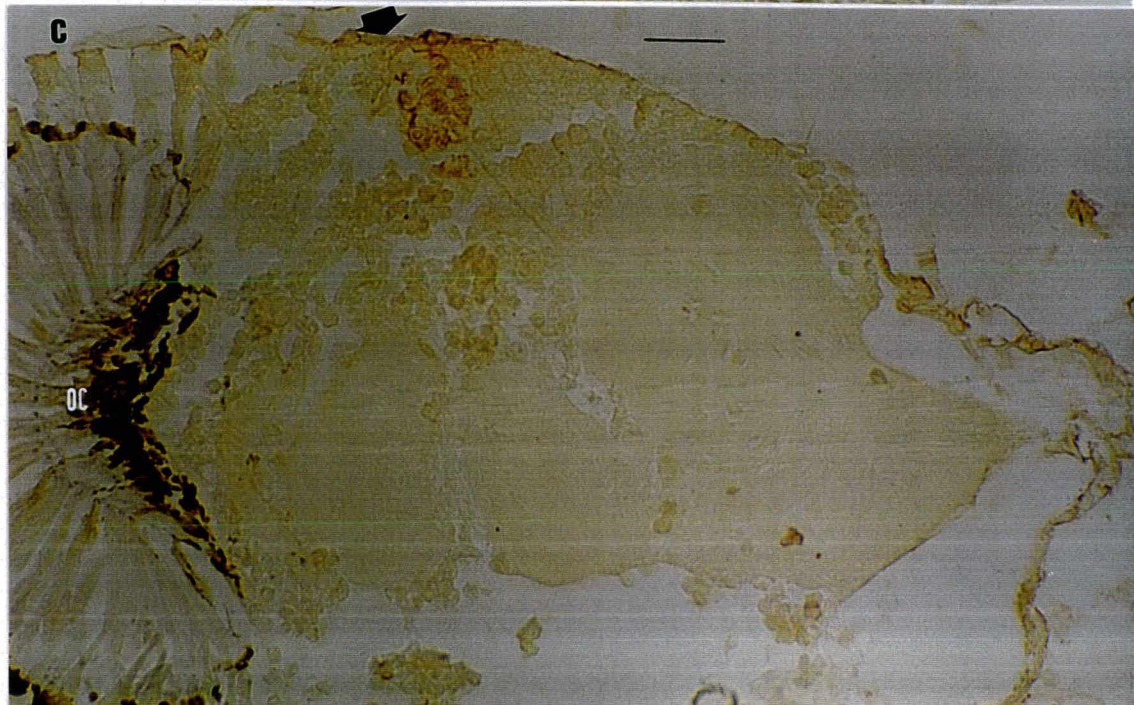
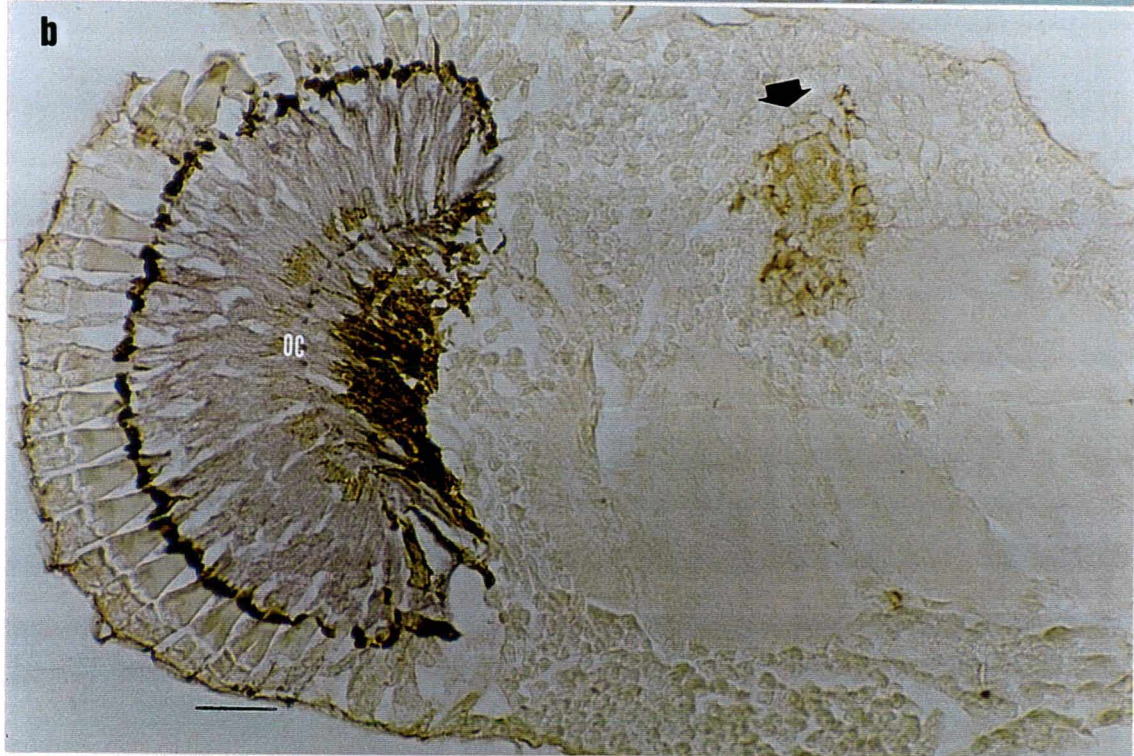
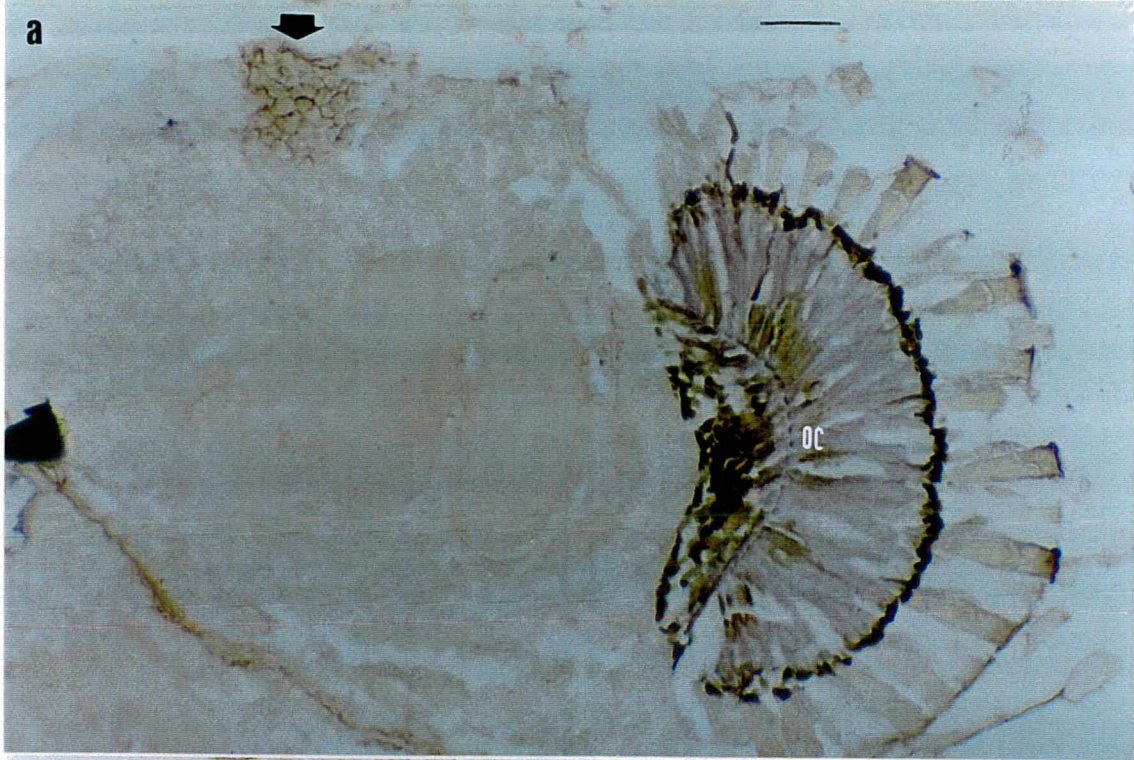
decorrência do crescimento do corpo hemielipsóide, as células imunoreativas ocupam uma região mais lateral, atingindo no ponto mais extremo a carapaça quitinosa que envolve o pedúnculo óptico, local onde a marcação serotoninérgica foi mais intensa. Neste estágio larval, algumas das células imunoreativas apresentaram-se mais achatadas e com uma região de laminação em seu interior.

A partir do segundo estágio larval, a imunoreatividade à serotonina é evidenciada também no gânglio cerebral.

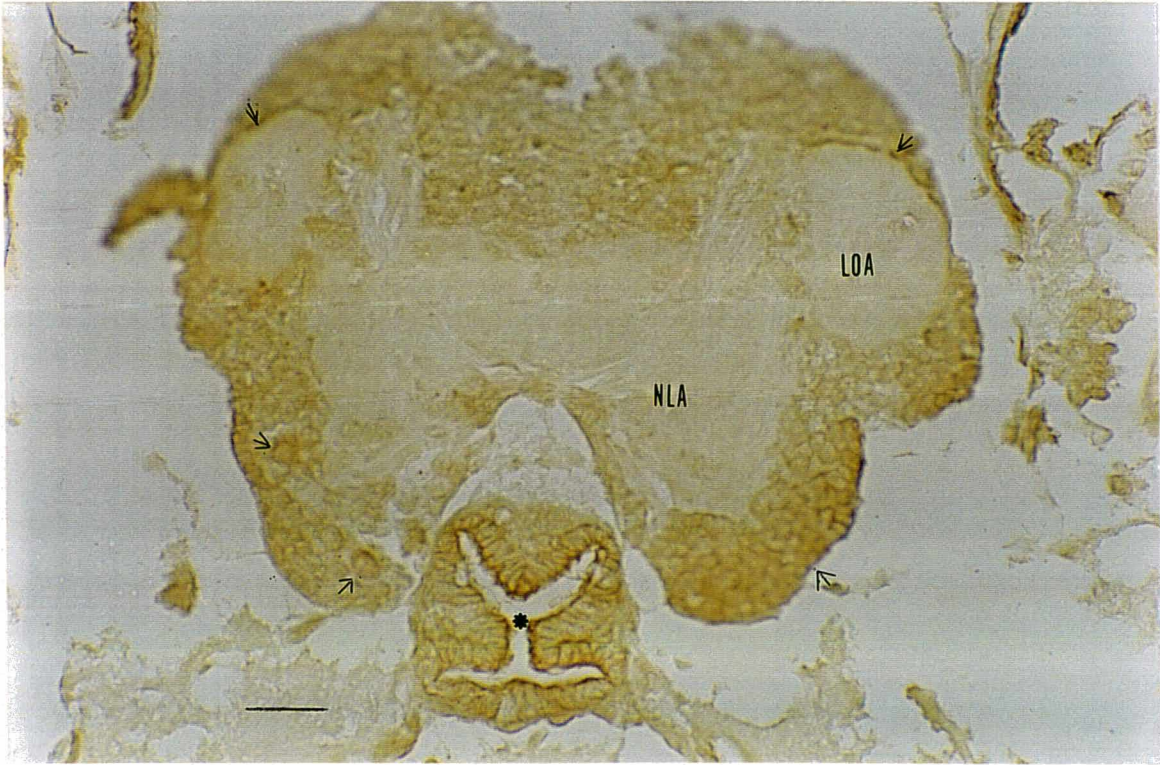
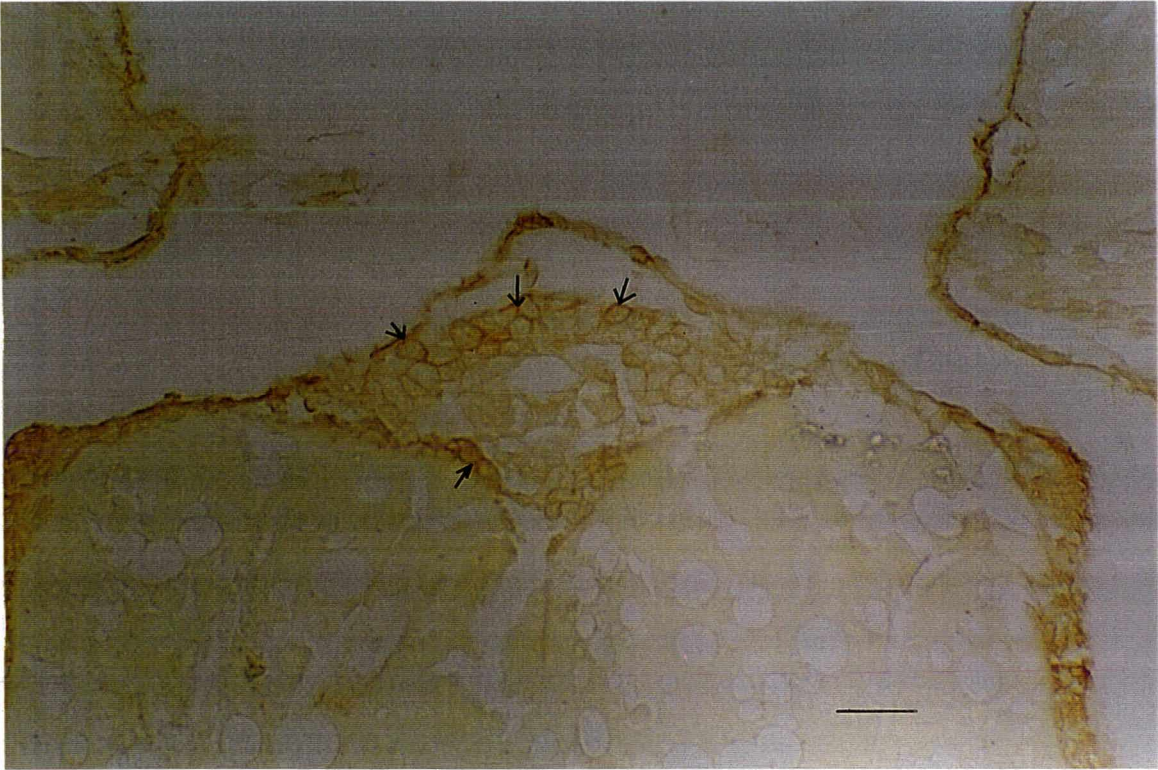
No agrupamento medial anterior, aproximadamente 15 corpos celulares apresentaram imunoreatividade à serotonina (fig. 19).

Alguns corpos celulares da região anterior do agrupamento ventral medial apresentaram marcação serotoninérgica discreta enquanto aqueles situados na região posteriores aos lobo olfatórios/acessórios apresentaram marcação mais intensa. Uma "capa delgada" de imunomarkação serotoninérgica também foi detectada envolvendo os lobos olfatórios/acessórios (fig 20).











#### 4. 3 Tipos celulares presentes no gânglio cerebral e no pedúnculo óptico de *Macrobrachium potiuna*

Os corpos celulares apresentaram características morfológicas e morfométricas que permitiu discriminá-los basicamente em cinco tipos celulares, designados pelos números I, II, III, IV e V.

As características morfológicas das células e às técnicas de coloração utilizadas para sua identificação, Cromo-alúmen hematoxilina e floxina (CAHF) e Azul de Toluidina, estão relacionadas abaixo:

**Tipo I** - Células arredondadas cujo citoplasma constitui uma finíssima camada, envolvendo um núcleo central. A delimitação do núcleo nem sempre é evidente, a cromatina é enovelada e concêntrica ocupando toda a extensão do núcleo. São as menores e mais numerosas células, geralmente encontradas em conjunto nos agrupamentos do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral.

CAHF – célula azul intensa arroxeada

Azul de toluidina – célula azul escura

**Tipo II** - Células arredondadas ou alongadas, cujo citoplasma forma uma camada delgada envolvendo um núcleo central bem delimitado. A cromatina nuclear é enovelada e tem aspecto estrelar. Estas células são encontradas em conjunto nos agrupamentos celulares que envolvem a medula terminal do pedúnculo óptico e nos agrupamentos do gânglio cerebral.

CAHF- citoplasma acinzentado ou azulado; núcleo arroxeado.

Azul de Toluidina- citoplasma do lilás ao roxo e núcleo azul escuro.

**Tipo III**- Células alongadas com citoplasma abundante aonde estão frequentemente presentes vacúolos periféricos. O núcleo é grande e central ou levemente excêntrico identificando-se um ou dois nucléolos. A cromatina é estrelada

porém mais difusa que no tipo II. Estas células são encontradas formando pequenos conjuntos, associados a outros tipos celulares nos agrupamentos que envolvem a medula terminal do pedúnculo óptico e nos agrupamentos do gânglio cerebral.

CAHF- citoplasma acinzentado granuloso a azulado; núcleo roxo e nucléolo em vermelho intenso.

Azul de Toluidina- o citoplasma roxo e núcleo em azul escuro.

**Tipo IV-** Células fusiformes ou arredondadas, o citoplasma não é evidente, o núcleo apresenta cromatina difusa e diversos nucléolos. Estas células formam uma bainha em torno dos neurópilos, interpostas às fibras nervosas.

CAHF- célula arroxeadada.

Azul de Toluidina- célula azul escura.

**Tipo V-** Grandes corpos celulares polimórficos com citoplasma abundante. O núcleo é central com cromatina difusa, sendo verificados dois ou três nucléolos. Estas células são encontradas em caráter unitário, entre os outros tipos celulares nos agrupamentos do gânglio cerebral e em conjunto no agrupamento medial posterior verificado nos jovens e adultos.

CAHF- citoplasma acinzentado, cromatina nuclear arroxeadada; nucléolo vermelho intenso.

Azul de Toluidina- citoplasma lilás ou roxo e a cromatina nuclear azulada.

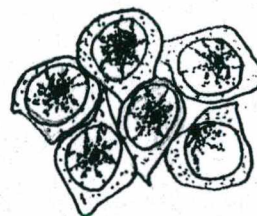
Estes tipos celulares podem ser facilmente identificados nos agrupamentos celulares do indivíduos jovens e adultos, e mais dificilmente nas larvas. Suas medidas são bastante diferentes nos três momentos do ciclo de vida de *M. potiuna*.

Os cinco tipos celulares estão representados nas figuras 21 e 22. As medidas do eixo longitudinal, e do eixo transversal do corpo celular e do núcleo são apresentadas na Tabela I.

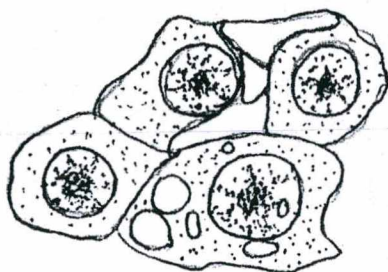




Corpos celulares tipo I



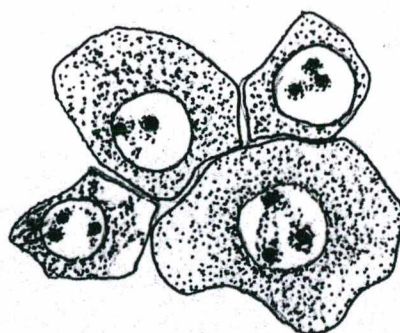
Corpos celulares tipo II



Corpos celulares tipo III



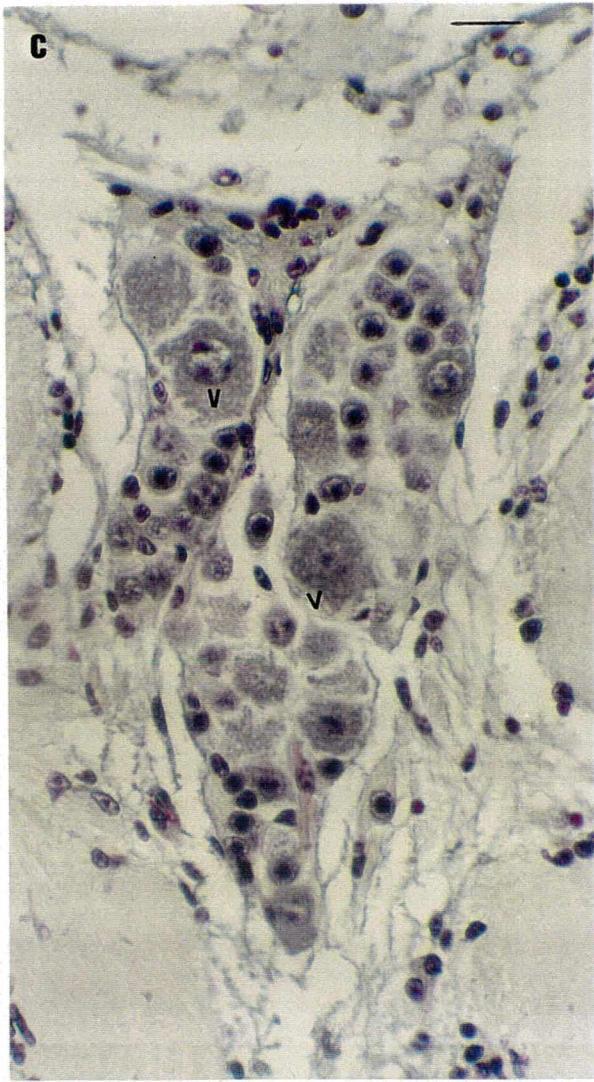
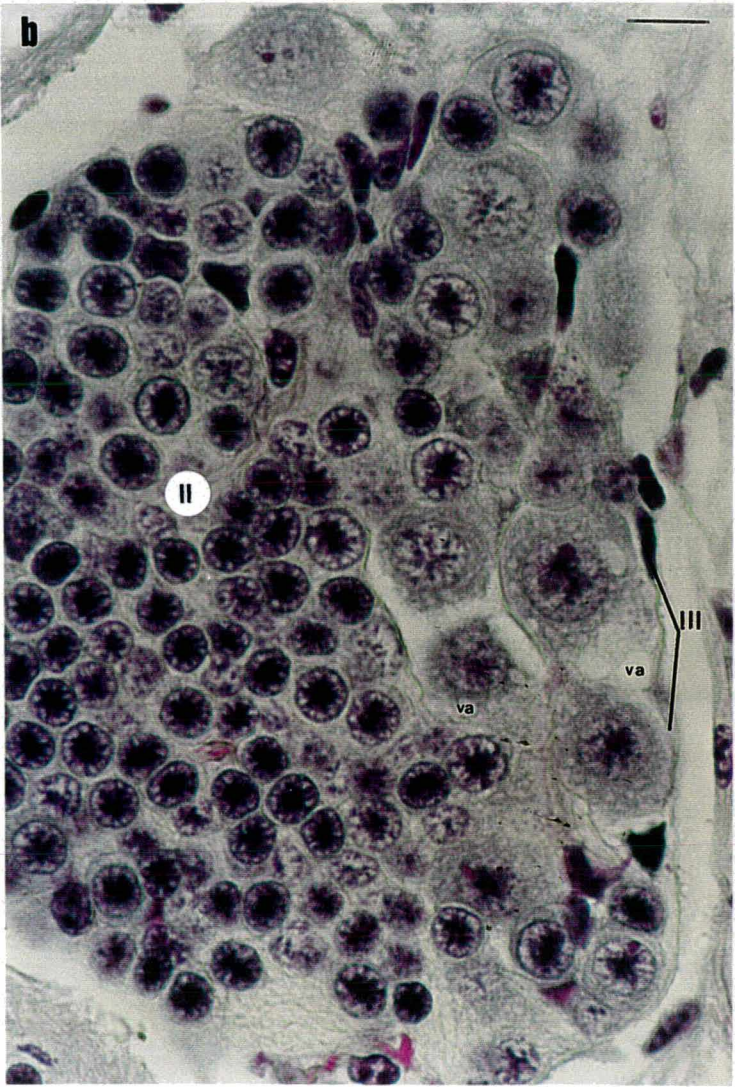
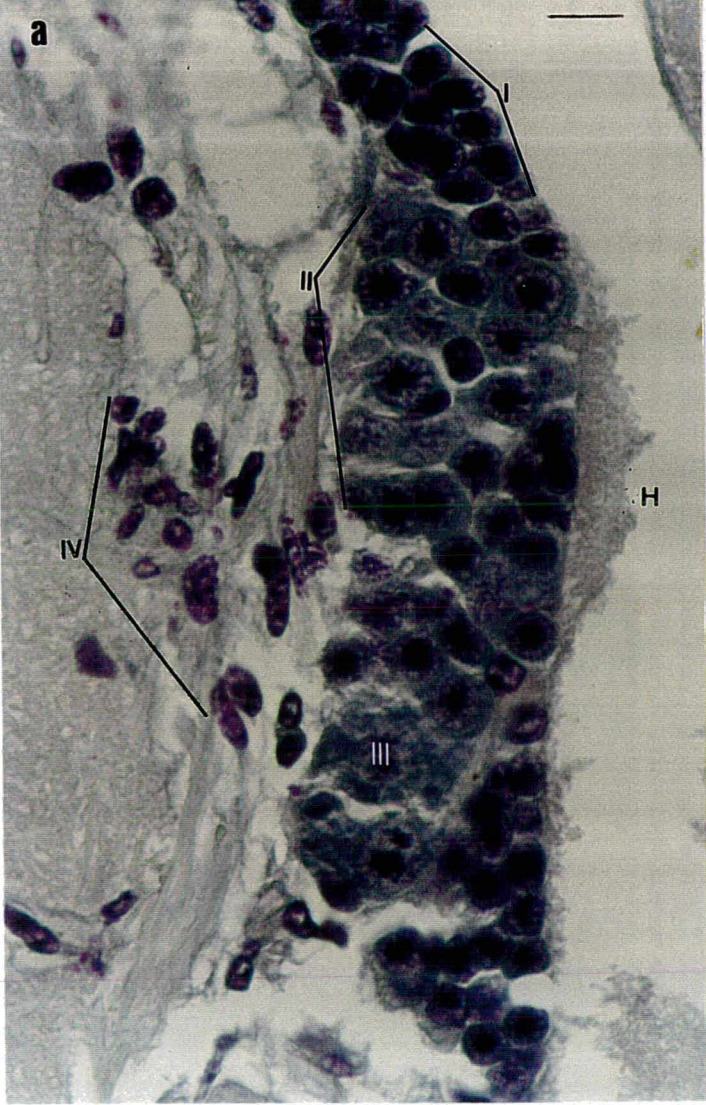
Corpos celulares tipo IV



Corpos celulares tipo V

**Figura 21:** Representação esquemática dos cinco tipos celulares presentes no pedúnculo óptico e gânglio cerebral de *Macrobrachium potiuna*. Desenhos obtidos em câmara clara (500x).







**TABELA 1:** Características morfométricas do citoplasma e do núcleo dos cinco tipos celulares presentes no gânglio cerebral e no pedúnculo óptico do camarão de água-doce *Macrobrachium potiouana*.

TIPOS CELULARES	CARACTERÍSTICAS MORFOMÉTRICAS DAS CÉLULAS DOS ADULTOS		
	CITOPLASMA		NÚCLEO
	EIXO LONGITUDINAL	EIXO TRANSVERSAL	EIXO LONGITUDINAL EIXO TRASNSVERSAL
Tipo I	8,27µm - 13,57µm	8,27µm - 10,18µm	-
	média de 10,35µm(± 1,27 µm)	8,80µm (±1,14µm)	
Tipo II	13,99µm – 20,77µm	9,33µm – 17,80µm	8,06µm – 13,36µm
	média de 18,54µm(±2,44µm)	14,64µm (±2,60µm)	
Tipo III	18,23µm – 32,86µm	13,57µm – 30,10µm	11,10µm (±1,55µm)
	média de 25,48µm(±4,79µm)	18,61µm (±4,36µm)	
Tipo IV	10,60µm – 18,8µm	4,86µm – 10,18µm	9,54µm – 16,11µm
	média 14,16µm (± 2,70µm)	7,26 (± 1,44µm)	
Tipo V	36,04µm – 57,24µm	22,05µm – 47,28µm	12,47µm (±2,01µm)
	média de 46,24µm(±6,77µm)	33,44µm (±7,58µm)	
			16,32µm – 23,53µm
			18,57µm (±2,51µm)

### 4. 3 Organização do Sistema Nervoso Juvenil

#### O OLHO COMPOSTO

O olho composto dos indivíduos jovens é semelhante aos das larvas, porém apresenta algumas diferenças que podem ser observadas na figura 23.

Nas duas lentes corneais sobrepostas, verifica-se que os núcleos estão mais achatados que aqueles presentes nas larvas e os cones cristalinos ainda são curtos.

Os núcleos das células retinianas apresentam-se dispostos na região superior da retina e nas extremidades laterais desta última. Nos indivíduos juvenis, ainda se reconhece na extremidade da região da retina, a zona de proliferação omatideal, também verificada nas fases larvais.

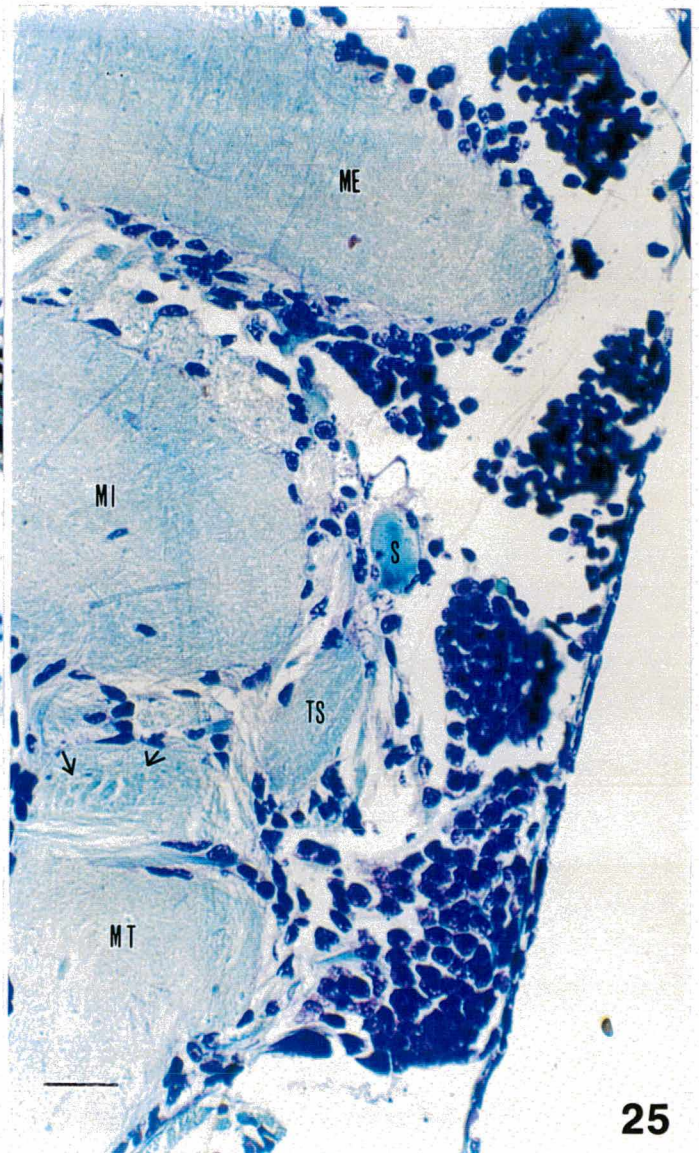
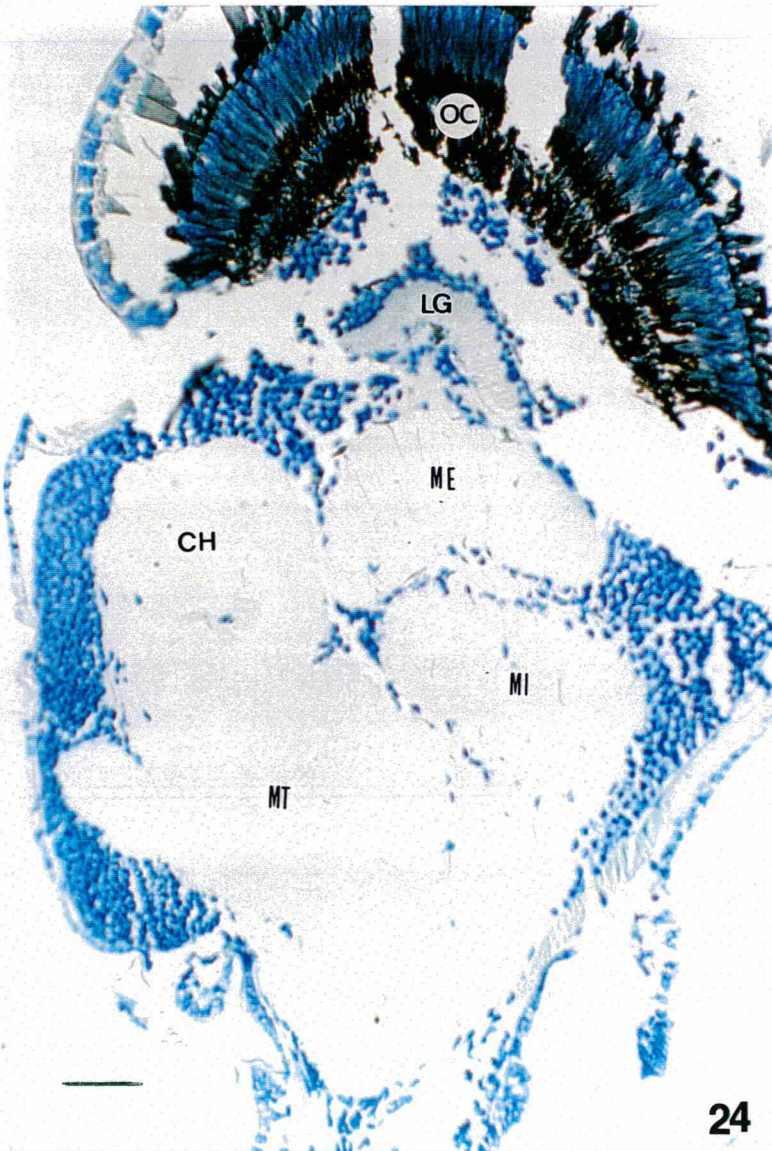
#### O PEDÚNCULO ÓPTICO

O pedúnculo óptico dos jovens apresenta-se achatado em seu eixo transversal, quando comparados aos pedúnculos cilíndricos das larvas.

Os neurópilos do pedúnculo óptico do jovem (fig. 24) apresentam um grande aumento de tamanho quando comparados aos das larvas. A característica mais marcante neste estágio, refere-se aos neurópilos do protocérebro lateral os quais apresentaram um grande crescimento. A margem superior do corpo hemielipsóide encontra-se na mesma altura que a da medula externa, característica somente observada nesta fase da vida do indivíduo.

A medula terminal ocupa praticamente toda a base inferior do pedúnculo óptico, em sua região mediana podem ser reconhecidos diversos microglomérulos circulares, os quais correspondem às áreas de contato entre os neurônios sensoriais e os interneurônios, indicativo de intensa conectividade sináptica.







O trato nervoso da glândula do sinus é facilmente verificado na região lateral da medula terminal, assim como a glândula do sinus, posicionada entre a medula interna e a medula externa (fig.25).

### O GÂNGLIO CEREBRAL

Na fase juvenil, o acentuado crescimento dos neurópilos do gânglio cerebral, possibilita o reconhecimento de agrupamentos de corpos celulares bem delimitados.

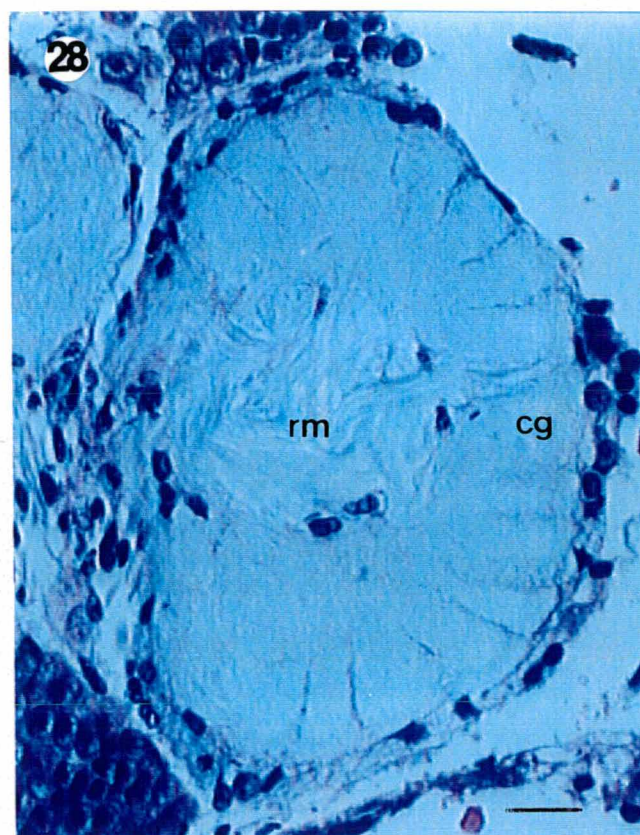
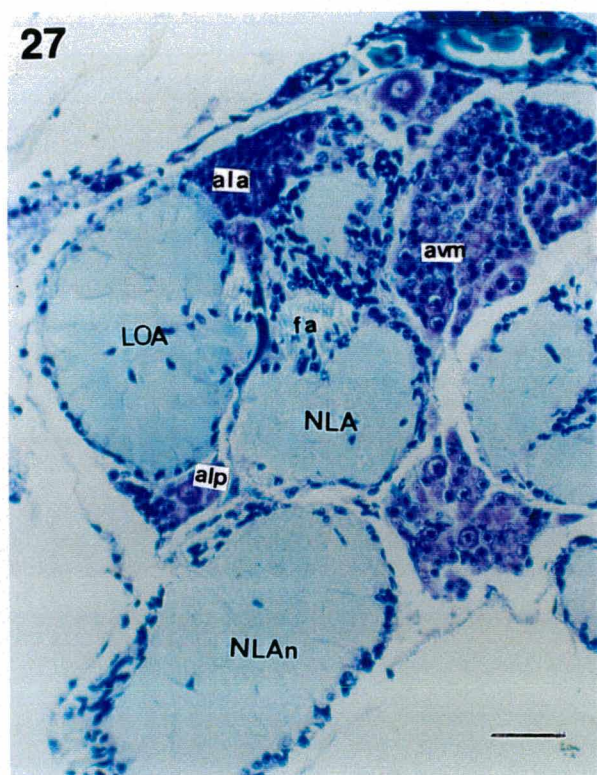
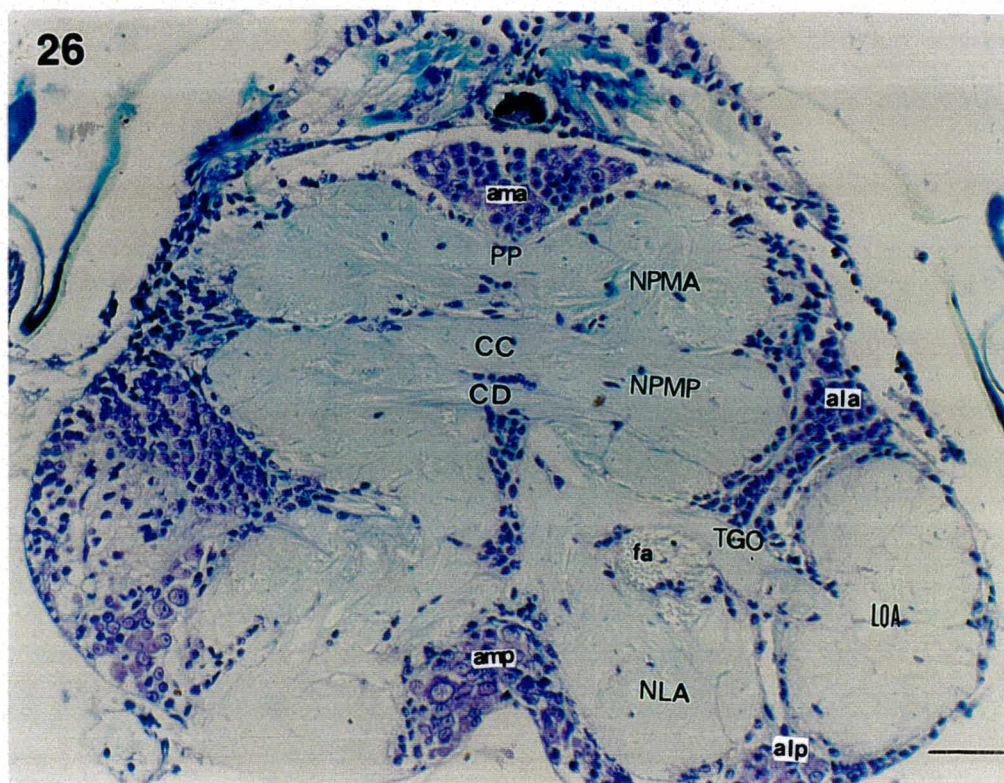
Na face dorsal (fig. 26) verifica-se o agrupamento medial anterior, constituído principalmente de células do tipo I, II e III; agrupamentos laterais anterior, aonde predominam células do tipo I e II, e posterior, constituídos principalmente de células do tipo II e III e o agrupamento medial posterior por células do tipo I, II,III além dos grandes corpos celulares do tipo V.

Os neurópilos e seus feixes de interconexão são mais evidentes que no estágio larval; principalmente da região deutocerebral. O trato globular-olfatório é bastante espesso, assim como a comissura deutocerebral.

Na face ventral (Fig 27) o agrupamento ventral medial ainda é proeminente, os longos neuritos provenientes das antênulas estão mais organizadas e parecem incorporar-se aos neurópilo laterais das antênulas. Os neurópilos laterais das antenas apresentam-se mais inclinados do que nas fases larvais devido ao alongamento do cefalotórax.

O crescimento dos lobos olfatório-acessório é notável, bem como a maior complexidade estrutural na organização da zona medular interna e do córtex glomerular (fig.28).







IMUNODETECÇÃO SEROTONÉRGICA NO PEDÚNCULO ÓPTICO E NO GÂGLIO CEREBRAL

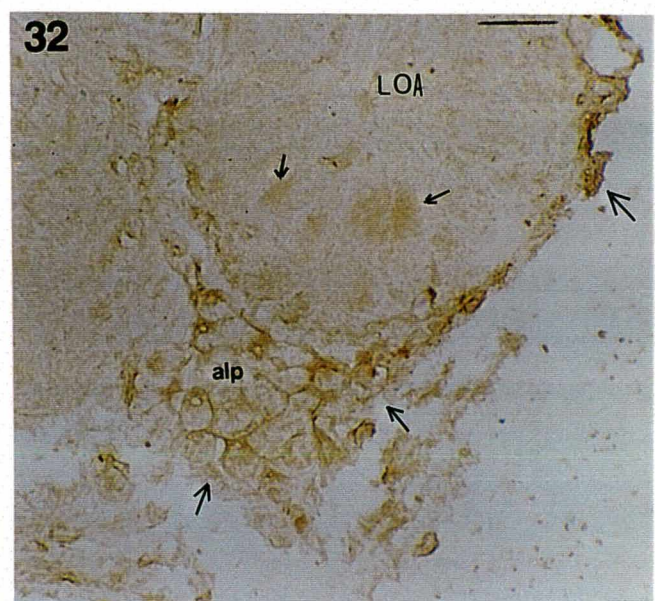
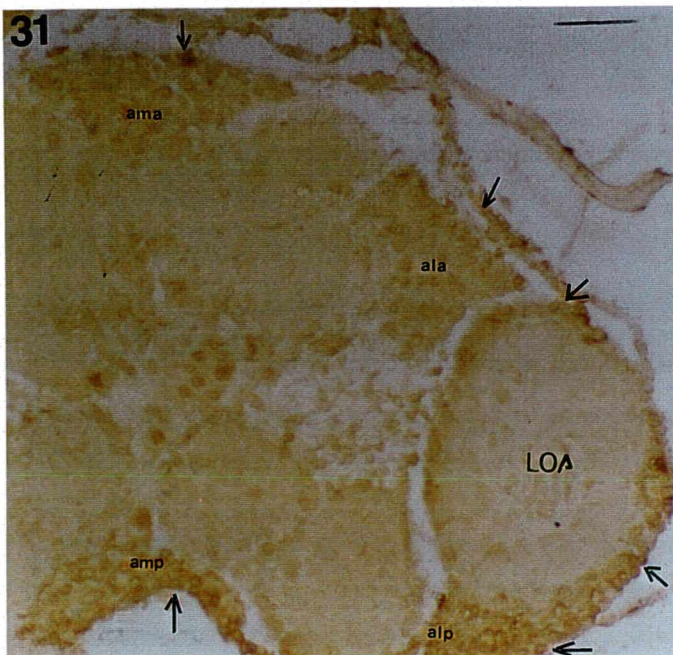
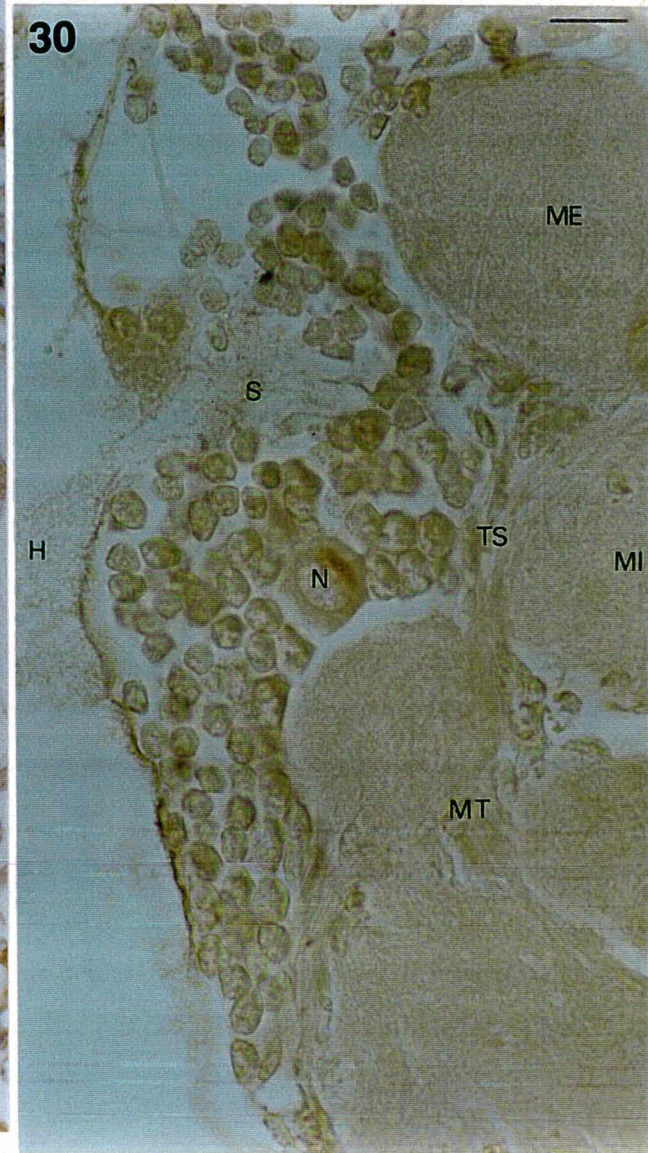
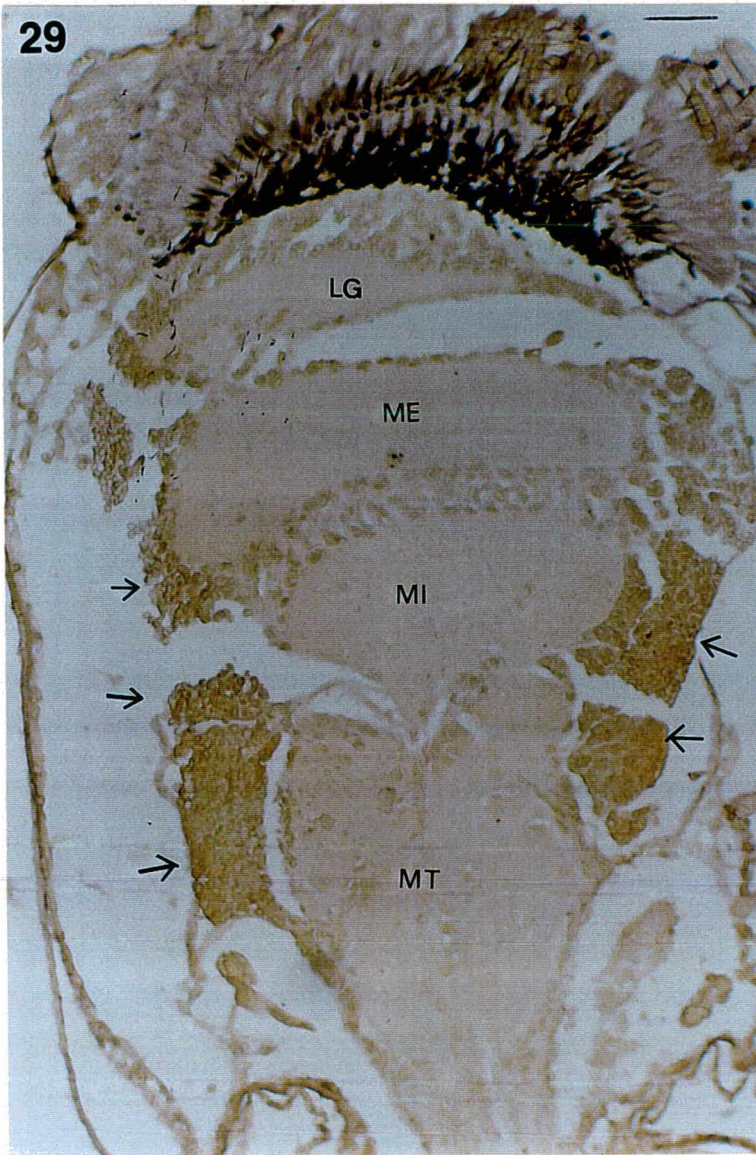
A imunoreatividade à serotonina nos juvenis é mais amplamente distribuída que nas larvas, tanto no pedúnculo óptico quanto no gânglio cerebral.

Marcação intensa foi observada nos agrupamentos celulares associados às três medulas (fig.29). O neurônio gigante da medula terminal mostrou marcação mais intensa na região nuclear (fig.30); não foi verificada marcação serotonérgica no trato nervoso da glândula do sinus ou na glândula do sinus.

No agrupamento medial anterior do gânglio cerebral diversos corpos celulares apresentaram imunoreatividade à serotonina assim como no agrupamento medial posterior (fig 31).

Marcação serotonérgica foi identificada nos agrupamentos laterais que circundam os lobos olfatório, principalmente os grandes corpos celulares do tipo III que fazem parte do agrupamento lateral posterior (fig 32). No lobo olfatório marcação mais fraca pode ser observada em algumas regiões glomerulares.







#### 4. 1. 4 Organização do Sistema Nervoso do Adulto

##### OS OLHOS COMPOSTOS

Os olhos compostos (fig. 33) apresentam-se como uma sequência bem estruturada de omatídios com estrutura idêntica, dispostos lado a lado.

Cada omatídio é formado por dois pares de lentes corneais, com núcleo achatados periféricos, sobrepostos aos cones cristalinos os quais apresentam-se triangulares, finos, longos e com estrutura bipartida. Entre os cones cristalinos é verificada a presença de células pigmentares além da zona de pigmento distal já observada nos outros estágios do desenvolvimento. Nos cortes transversais a estrutura omatideal tem formato quadrangular.

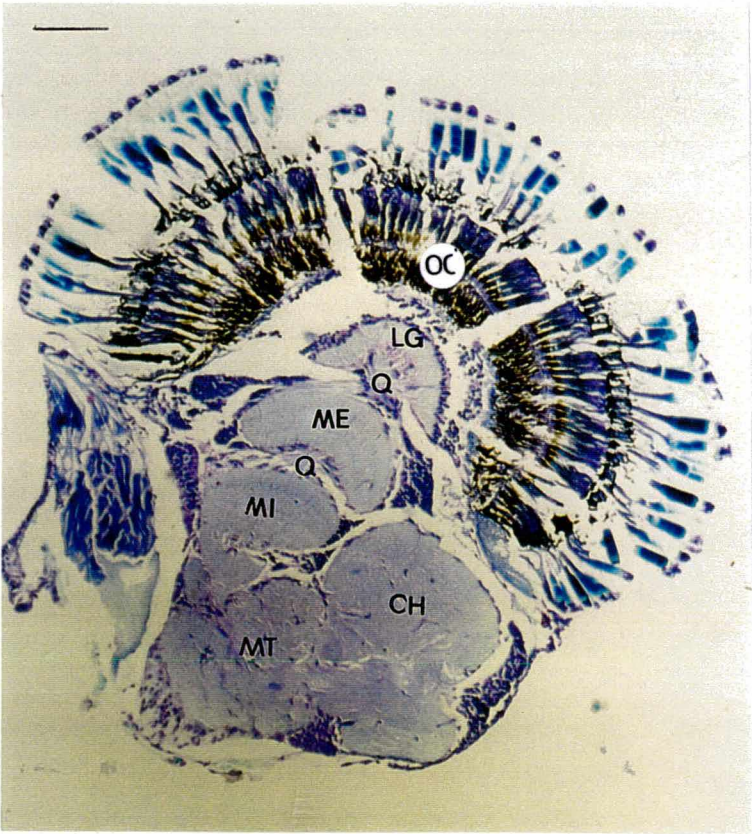
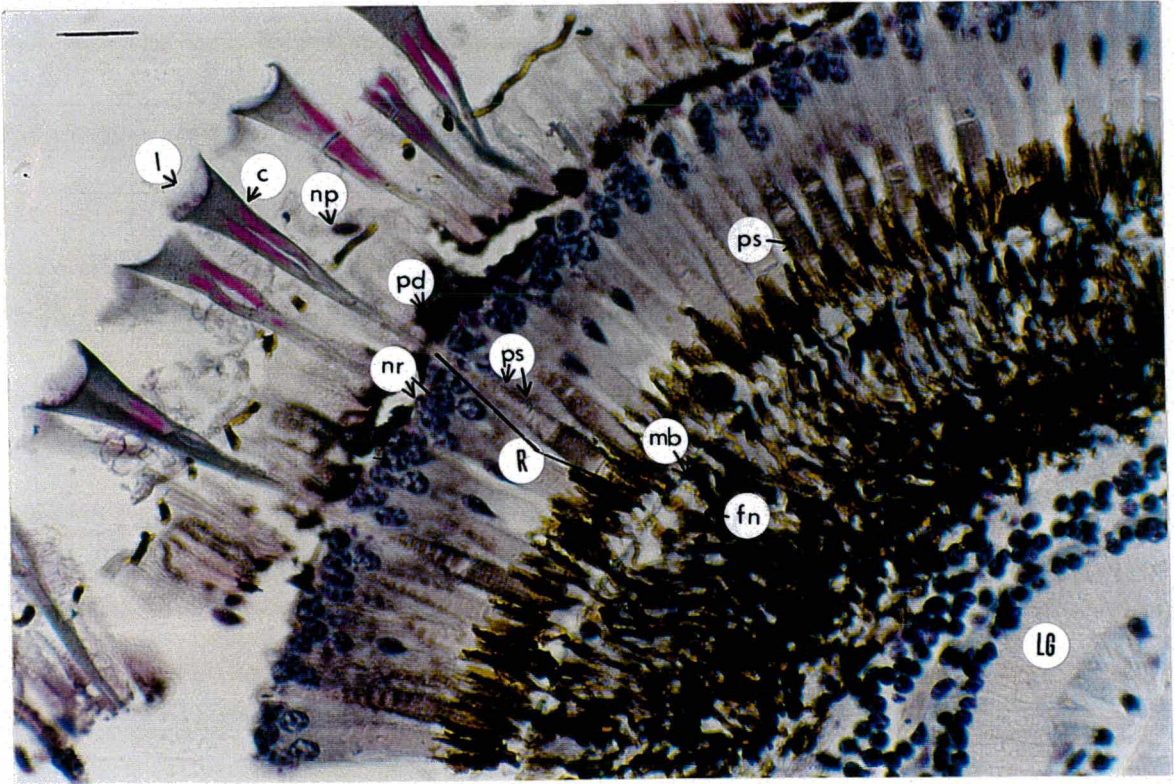
Nas fêmeas adultas não foi verificada a presença da zona de proliferação omatideal.

As estruturas posicionadas abaixo da retina apresentam organização e morfologia idênticas à descrita para as fases larvais e para o juvenil.

##### O PEDÚNCULO ÓPTICO

Na periferia dos neurópilos do lobo óptico (fig. 34) evidencia-se que os corpos celulares, principalmente do tipo I, formam uma camada contínua, enquanto aqueles que envolvem a medula terminal são formados principalmente por células do tipo II e III e constituem agrupamentos celulares característicos.

A lâmina ganglionar apresenta-se como um neurópilo em formato de meia lua, onde é bastante evidente o padrão geometricamente estruturado seguindo a organização dos receptores da retina. Na região central deste neurópilo verifica-se um quiasma espesso ligando-o a medula externa.





A medula externa tem formato reniforme e apresenta também uma organização estruturada com faixas de fibras longitudinais, intercaladas por faixas mais estreitas de fibras transversais. A medula externa está ligada inferiormente à medula interna por um quiasma de fibras nervosas. A medula interna apresenta a mesma organização neuropilar das outras duas medulas que compõem o lobo óptico.

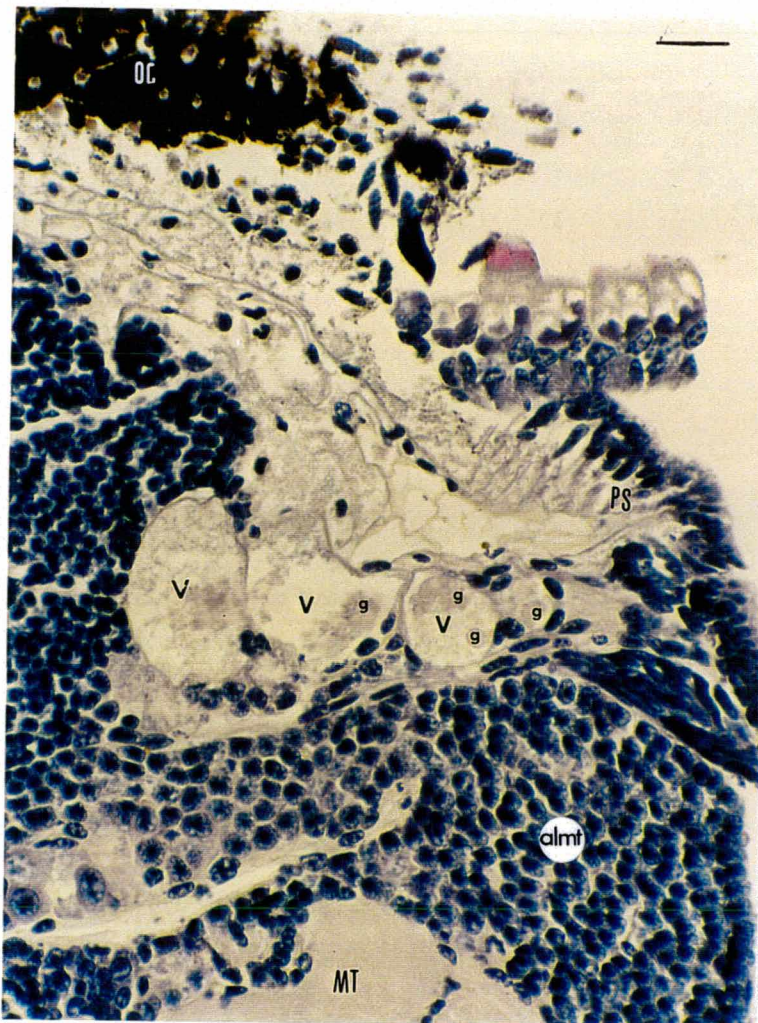
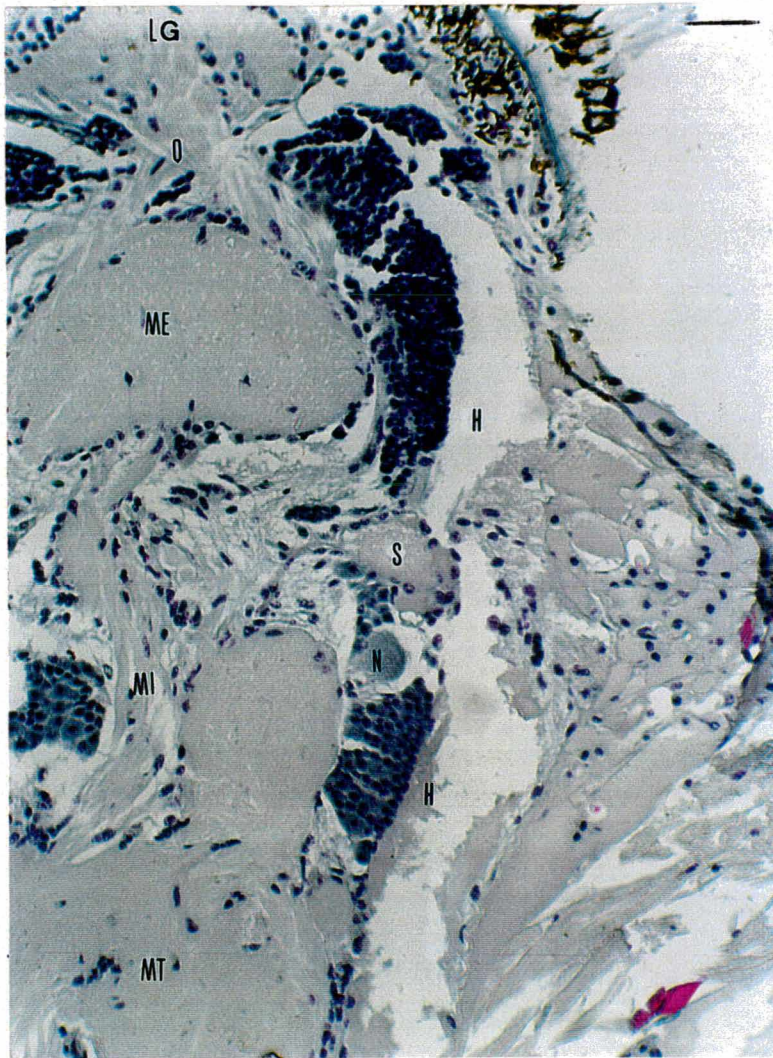
A medula terminal nos indivíduos adultos é larga e achatada, suas fibras apresentam regiões de grandes circunvoluções, porém predomina o arranjo não estruturado, típico dos neurópilos do gânglio cerebral. A região mais central da medula terminal, apresenta diversos microglomérulos, os quais correspondem a áreas de intensa conectividade sináptica

Da região medial da medula terminal emerge o corpo hemielipsóide (CH). O conjunto formado pela medula terminal e o corpo hemielipsóide parece constituir um neurópilo único.

A glândula sinus (fig.35) pode ser identificada na região dorsal do pedúnculo óptico, ao lado do quiasma que une a medula interna à medula externa, localizada entre dois vasos hemais, um deles está disposto superiormente e possui dimensões menores enquanto o outro localiza-se inferiormente e estende-se desde a base do pedúnculo óptico até o local da glândula sinus.

Os corpos celulares que envolvem a medula terminal formam dois agrupamentos bastante característicos, um na base lateral do neurópilo, constituído principalmente de corpos celulares do tipo III entre os quais destaca-se o neurônio gigante da glândula sinus. O segundo agrupamento celular está posicionado na base medial da medula terminal e é constituído por corpos celulares do tipo I e do tipo II.







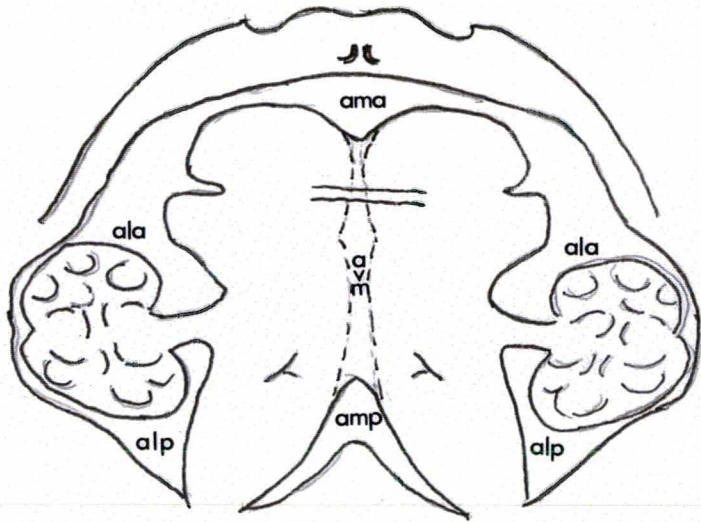
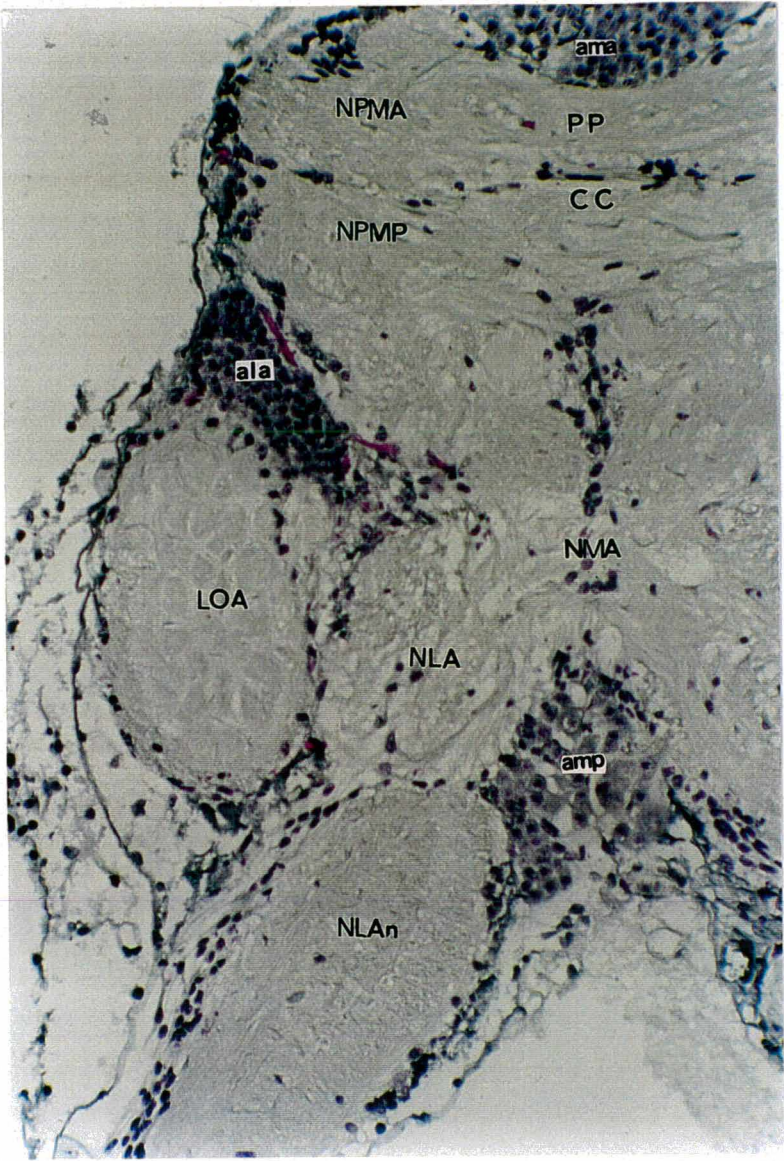
Na região ventral superficial (fig 36), junto aos corpos celulares de grande tamanho que envolvem a medula terminal, são encontradas cinco estruturas vacuolares, repletas de grânulos de diferentes tamanhos em seu interior. Estas estruturas estão associada às fibras axonais de um conjunto de células achatadas e alongadas, situadas na região limítrofe entre os corpos celulares e a camada de revestimento do olho composto, constituindo o órgão-X do poro sensorial ou órgão de Bellonci.

### O GÂNGLIO CEREBRAL

Nas fêmeas adultas da espécie *Macrobrachium potiuna*, os neurópilos do gânglio cerebral apresentam maior complexidade no arranjo de suas fibras, o que lhes confere dimensões bem maiores que aquelas observadas no período larval e juvenil.

Os corpos celulares estão dispostos na periferia formando agrupamentos celulares com localização característica na região anterior e posterior da face dorsal semelhante ao dos indivíduos jovens. Na face ventral do gânglio cerebral dos adultos, o agrupamento ventral medial apresenta-se bastante estreitado, em virtude do crescimento dos neurópilos. Este agrupamento é formado principalmente por células do tipo II e III, e é contínuo ao agrupamento medial posterior o qual apresenta os grandes corpos celulares do tipo V (fig. 37, fig. 38).

A ponte protocerebral (fig. 39a) apresenta-se como um neurópilo de formato triangular, posicionada à margem superior do corpo central o qual está ligado ao par de neurópilos protocerebrais mediais anteriores através de espessos feixes de fibras que partem bilateralmente de sua região lateral e ventral.





O par de neurópilos protocerebrais mediais anteriores é contínuo ao par de neurópilos protocerebrais mediais posteriores. Nos cortes frontais o corpo central é alongado e filiforme, disposto transversalmente na região mediana entre os dois pares de neurópilos protocerebrais mediais (fig 37).

A região deutocerebral (fig 39 b, c) é marcada pela presença dos lobos olfatório e acessório fundidos de formato reniforme .

Os lobos olfatório e acessório, apresentam internamente glomérulos colunares, dispostos lado a lado, formando uma região cortical de onde partem feixes espessos de fibras nervosas organizando uma região medular comum. Da região medular comum parte o espesso trato globular olfatório em direção aos neurópilos do protocérebro lateral (medula terminal e corpo hemielipsóide), além da comissura deutocerebral que não é tão evidente quanto o trato globular olfatório.

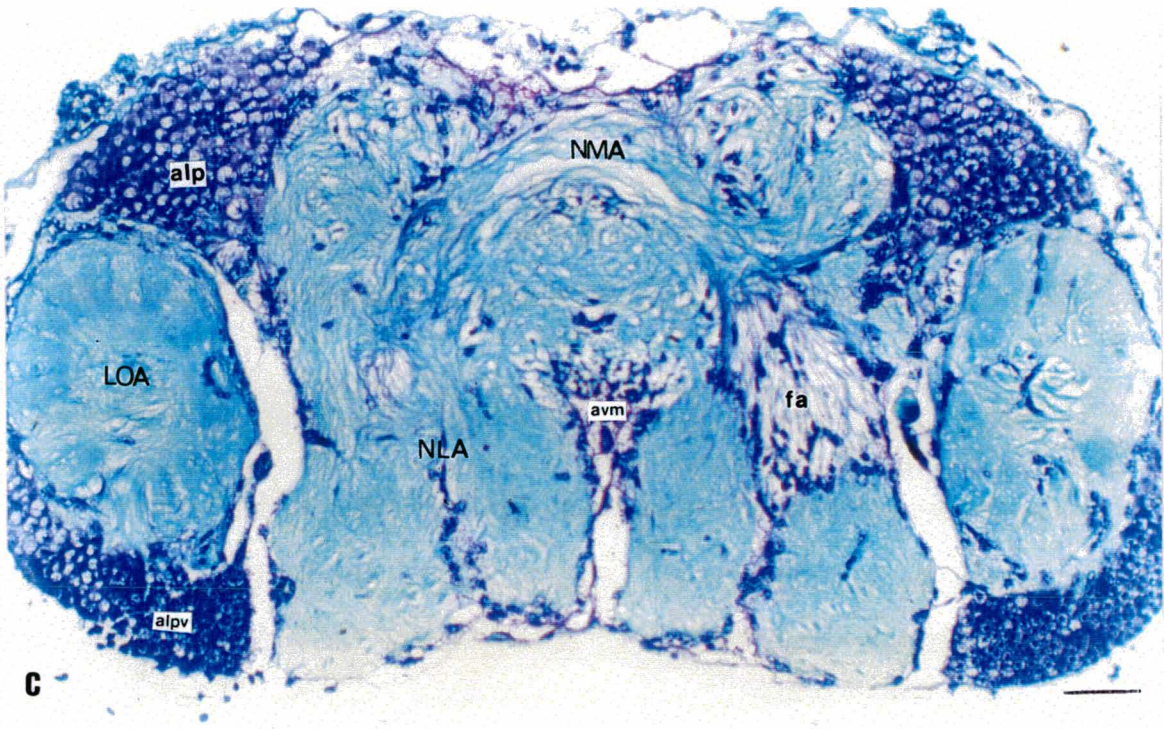
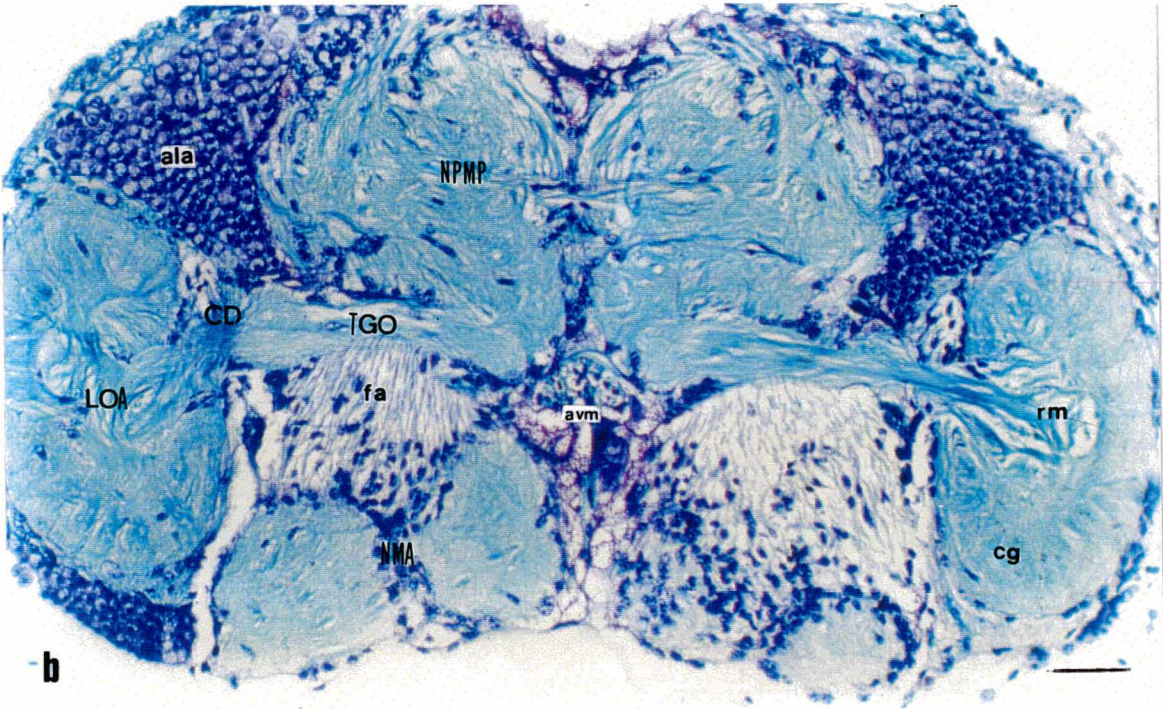
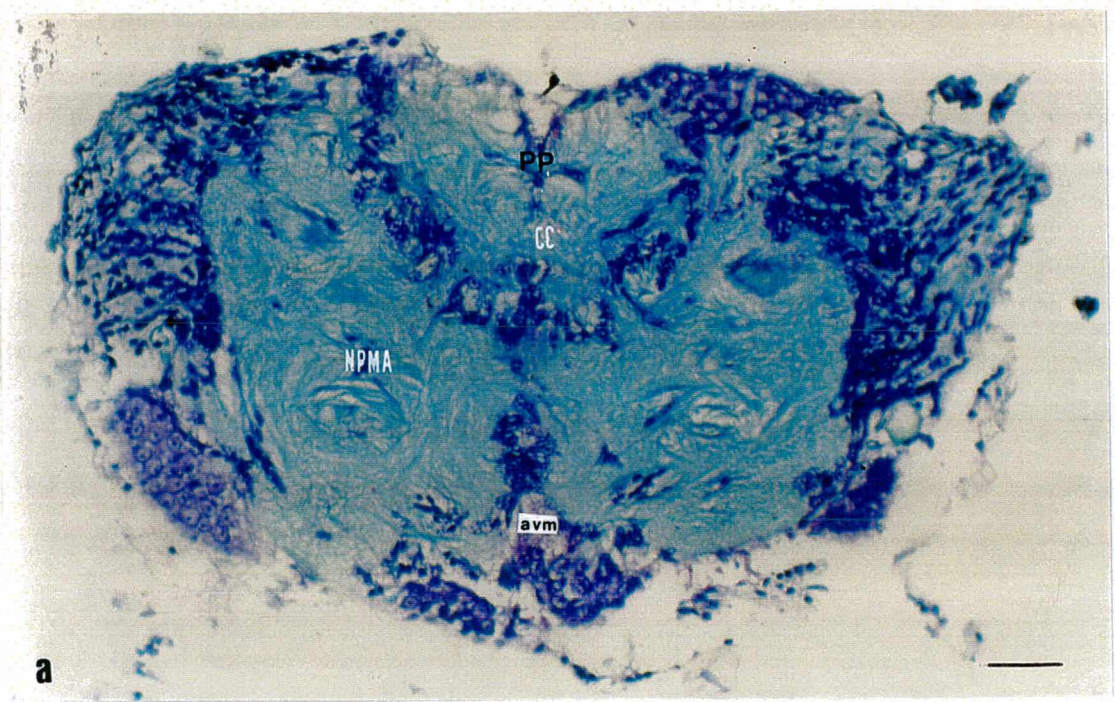
Os longos e esparsos neuritos que partem das antênulas são integrados às fibras da região mais superior dos neurópilos laterais das antênulas; verifica-se também que parte destas fibras dirigem-se perpendicularmente na direção das fibras do trato globular olfatório (fig. 39c).

O neurópilo medial das antênulas está posicionado na região mediana, fundido anteriormente ao par de neurópilos protocerebrais mediais posteriores e na região dorsal dos neurópilos laterais das antênulas.

Este neurópilo apresenta-se como um local de convergência do prolongamentos nervosos das antênulas e de ligação bilateral das fibras oriundas dos neurópilos laterais das antênulas (fig. 39c).

O tritocérebro é marcado pela presença do par de neurópilos laterais das antenas, posicionados na região mais posterior do gânglio cerebral (fig. 37), dorsalmente aos neurópilos laterais das antênulas e ventralmente ao conectivo esofageal.







Estes neurópilos tem formato fusiforme e são bastante alongados sendo que suas fibras nervosas sequeem um modelo estruturado, dispostas perpendicularmente umas às outras, no sentido do eixo longitudinal do neurópilo.

Nos cortes frontais e transversais analisados não foi identificado o neurópilo tegumentar.

### IMUNODETECÇÃO SEROTONÉRGICA NO PEDÚNCULO ÓPTICO E GÂNGLIO CEREBRAL DOS INDIVÍDUOS ADULTOS

Imunomarcção serotonérgica fraca foi evidenciada no citoplasma de alguns corpos celulares situados entre a medula interna e a medula terminal, tanto na região lateral quanto medial do pedúnculo óptico, os microglomérulos da medula terminal também apresentaram marcação (fig 40).

O neurônio gigante do trato da glândula sinus, apresentou marcação serotonérgica mais intensa distribuída em todo o núcleo (fig. 41).

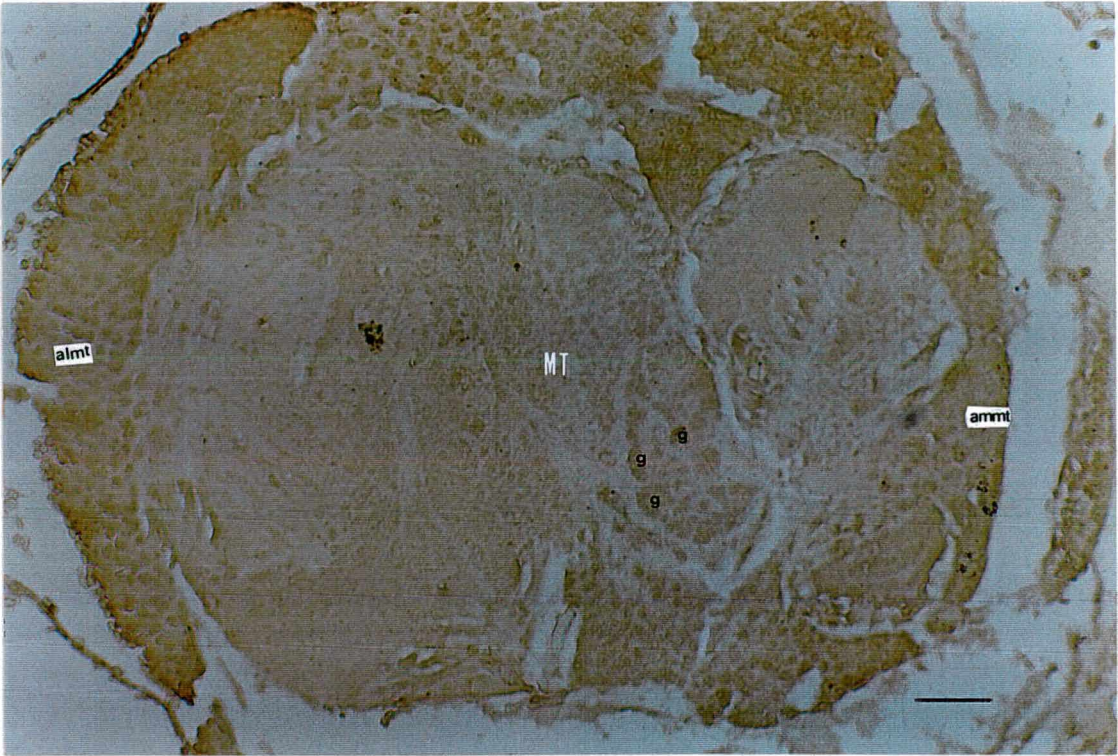
Os corpos celulares mais periféricos do agrupamento celular lateral à medula terminal também apresentaram marcação serotonérgica mais intensa.

No gânglio cerebral do adulto, a imunodeteccção serotonérgica é amplamente distribuída nos corpos celulares de todos os agrupamentos celulares. No agrupamento medial anterior, freqüentemente foi verificado um grande corpo celular do tipo III, imunoreativo à serotonina (fig. 42).

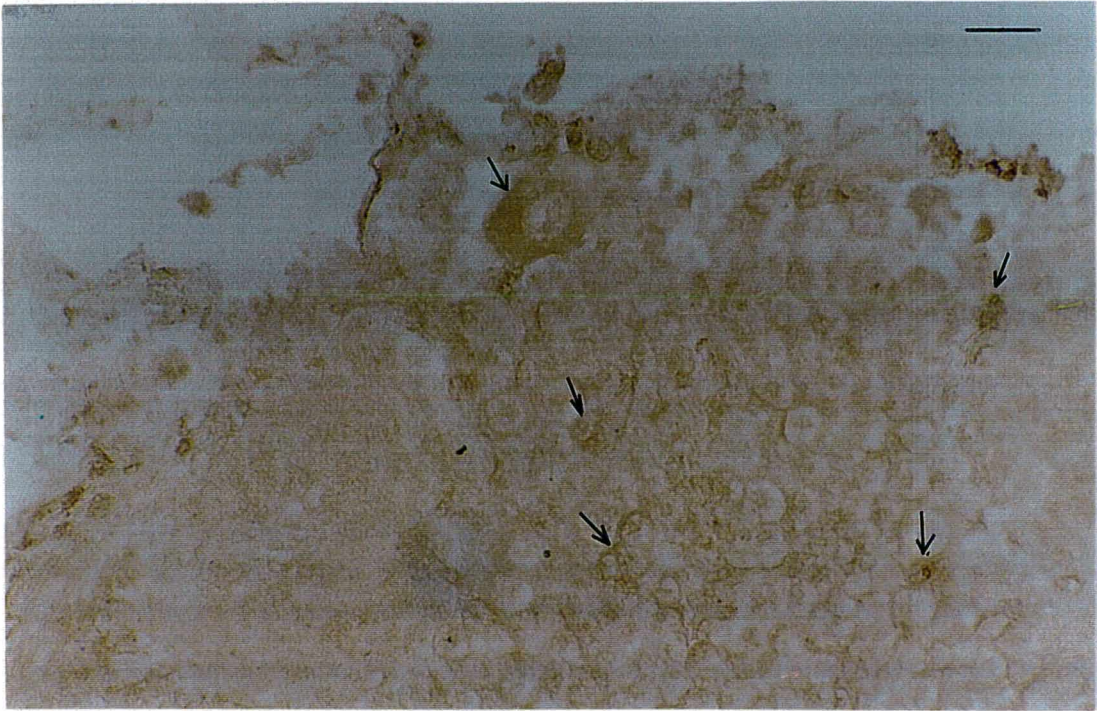


Foi verificada marcação serotoninérgica nos glomérulos dos lobos olfatório/acessórios, bem como na delimitação destes lobos e nos grandes corpos celulares do tipo III do agrupamento lateral posterior (fig. 43).

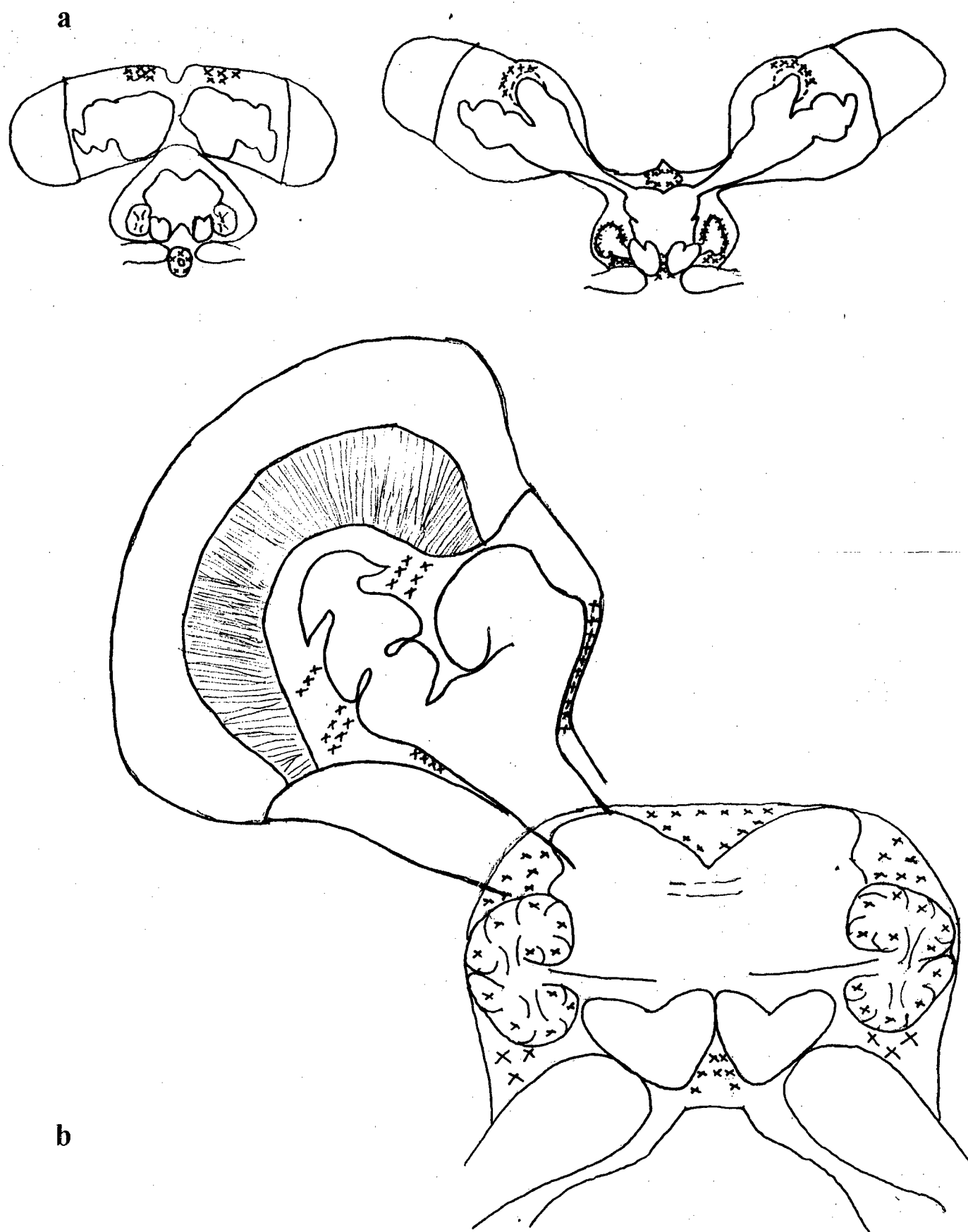
A figura 44 consta de representações esquemáticas apresentando os locais de marcação serotoninérgica durante as fases larval, juvenil e adulta.











**Figura 44:** Representação esquemática da marcação serotoninérgica (x) nos pedúnculo ópticos e gânglios cerebrais de *M. potiuna* a larva estágio 1 (esquerda), 2 e 3 (direita) b juvenil e adulto.

## 5- DISCUSSÃO

As larvas da espécie *Macrobrachium potiuna*, passam por um rápido desenvolvimento larval, no qual são verificadas alterações externas, principalmente quanto ao formato dos olhos laterais e do último segmento abdominal, atingindo na última fase características externas e comportamentais muito semelhantes às dos indivíduos jovens, o que caracteriza um desenvolvimento larval abreviado. As características das larvas de *M. potiuna* acompanhadas neste estudo, são idênticas às registradas por Müller (1892) no Vale do Itajaí.

Dentre as seis espécies da família Palaemonidae descritas para a ilha de Santa Catarina (Müller *et al.* 1999; Nazari *et al.* 2000), *M. potiuna* é a única encontrada exclusivamente em água doce (Müller & Carpes, 1991) e seus ovos são os mais volumosos (Dias, *et al.*, 2000).

A presença de ovos ricos em vitelo, associado ao comportamento parental das fêmeas na incubação destes, possibilitam um longo desenvolvimento embrionário, o que resulta na eclosão de uma larva bastante especializada, o que também pode ser verificado em *M. potiuna* e também em *M. reyesi* (Pereira & Garcia, 1995).

As características acima citadas corroboram com o preceito de que o desenvolvimento abreviado em camarões de água-doce, originou-se em virtude das pressões seletivas para o estabelecimento das espécies nos ambientes dulciaquícolas (Sollaud, 1923; Odinetz-Collart & Rabelo, 1996; Pereira & Garcia, 1995).



Embora em *M. potiuna* existam características bem definidas em cada uma das três fases do desenvolvimento larval, as alterações da morfologia externa e do comportamento não são tão significativas quanto naquelas espécies de água doce que apresentam desenvolvimento embrionário curto e um longo desenvolvimento larval; como por exemplo *Macrobrachium carcinus* (Choudhury, 1962)

O desenvolvimento dos olhos compostos e das estruturas neurais do pedúnculo óptico e do gânglio cerebral de *M. potiuna* também não sofrem grandes alterações durante o desenvolvimento larval, restringindo-se à reorganização espacial das estruturas já presentes à eclosão e ao refinamento e aumento das conectividades sinápticas dos neurópilos (Harszch & Dawirs, 1993).

No pedúnculo óptico, embora o corpo hemielipsóide seja apenas claramente identificado no segundo estágio larval, é provável que seus rudimentos já estejam presentes à eclosão, mas devido à posição e proximidade das medulas terminais nos pedúnculos sésseis, aliada às dificuldades de determinação das estruturas neuropilares impossibilitem seu reconhecimento

A dificuldade de identificação do corpo hemielipsóide no primeiros estágios larvais também é apontada por Harzsch & Dawirs (1996), nas larvas de *Hyas araneus* e *Carcinus maenas*.

A presença de olhos sésseis na eclosão, e sua liberação nas primeiras fases larvais, é uma característica bastante comum, tanto nas espécies que eclodem na forma de zoea conforme verificado no peneídeo *Palaemon serratus* (Bellon Humbert & Van Herp, 1978), no lagostim *Astacus leptodactylus* (Van Herp *et al.* 1979) quanto naquelas que eclodem como "pós-larvas" bastante especializadas, como é o caso de *Macrobrachium potiuna*. Esta característica parece decorrer da contenção espacial decorrente da vida embrionária, contrastando com a necessidade de processar estímulos visuais e químicos presentes na vida livre, levando à uma liberação precoce dos olhos.

Nilsson (1983) descreve que no modelo óptico de aposição presente na vida larval de diversas espécies de crustáceos, a transparência dos olhos dificulta a predação, e que este modelo óptico vai gradualmente sendo substituído pelo modelo mais complexo de superposição, acompanhando as diferenças de habitat e de fotoambiente. Em *M. potiuna* a ausência de células pigmentares entre os cones cristalinos do olho composto larval, está de acordo com o modelo óptico de aposição, enquanto na vida adulta, a disposição pigmentar corresponde à descrição do modelo óptico de superposição.

Os olhos compostos das larvas e indivíduos jovens de *M. potiuna*, apresentaram na extremidade da retina, uma região bem delimitada composta por células arredondadas que provavelmente corresponde a uma zona de proliferação omatideal. Harzsch & Dawirs (1996) comprovaram com uso de marcador específico uma zona de proliferação celular com morfologia muito semelhante nas larvas dos braquiurídeos *Hyas arenaeus* e *Carcinus maenas*.

No olho composto do adulto fica evidente um alongamento dos cones cristalinos, aumento do número de facetas omatideais, polarização das células retinulares em uma camada abaixo da membrana basal e um arranjo mais apurado das células pigmentares distais de proteção. Toda esta especialização estrutural, principalmente com relação ao aumento das facetas omatideais que ocorrem durante o desenvolvimento larval e a vida juvenil, provavelmente conferem uma maior sensibilidade visual (Nilsson, 1983; Harzsch & Dawirs, 1996). Estas características parecem subsidiar os comportamentos complexos do adulto na defesa de território, busca do alimento, fuga de predadores, cópula e cuidado parental.

A complexidade da organização das estruturas dos olhos compostos em *M. potiuna*, é refletida na organização das fibras nervosas dos três neurópilos do lobo óptico em "neuroomatídios", condição descrita também por Harzsch & Dawirs (1996)

em *Carcinus Maenas* e *Hyas araneus* e em *Macrobrachium olfersii* por Pacheco (2001).

Osorio & Bacon (1994), descrevem que uma visão aprimorada é essencial para os animais móveis, permitindo a navegação, a detecção e a interação com os objetos em ambientes complexos. Isto pode ser evidenciada pelo tamanho dos olhos compostos e complexidade de organização neuropilar, a qual é muito semelhante entre os crustáceos malacostracos, os insetos e outros artrópodes como os miriápodes (Nilsson & Osorio, 1997).

Os microglomérulos da medula terminal e os glomérulos do corpo hemielipsóide de *Macrobrachium potiuna*, são primeiramente verificados nos indivíduos jovens, sugerindo que o processo de glomerulização destes dois neurópilos esteja relacionado à experiência sensorial decorrente da vida no bentos.

Blaustein *et al.* (1988), descreve que o conjunto formado pela região glomerular da medula terminal e o corpo hemielipsóide, são anatomicamente equivalentes ao *corpora pedunculata* dos insetos o qual está relacionado à memória olfativa e aprendizagem (Heisenberg *et al.*, 1985; Nilsson e Osorio, 1997), processos dependentes de experimentação sensorial.

As estruturas do pedúnculo óptico relacionadas à função neurosecretora, também são reconhecidas desde o primeiro estágio larval em *M. potiuna* sofrendo pequenas alterações até atingir a vida adulta.

Os rudimentos da glândula do sinus de *M. potiuna*, podem ser reconhecidos no segundo estágio larval em uma posição muito semelhante àquela observada nos jovens e adultos, embora a presença de material neurosecretado seja apenas identificada a partir da idade juvenil, também verificado por Hubschman (1964) em *Palaemonetes kadiakensis*. O trato da glândula dos sinus e o neurônio gigante da medula terminal, frequentemente encontrado associado á este trato, também são reconhecidos desde o



primeiro estágio larval, com localização e morfologia muito semelhantes aos da larva e do adulto.

A morfologia e a localização da glândula do sinus nos adultos da espécie *M. potiuna* é muito semelhante àquela descrita em diferentes espécies incluindo na família *Palaemonidae* *Palaemonetes vulgaris*, *P. pugio*, *P. intermedius*, *P. kadiakensis* e *P. paludous* (Hubshman, 1963); *Palaemon paucidens* (Hisano, 1974) *Palaemon serratus* (Bellon-Humbert *et al.* 1978) e *Macrobrachium acanthurus* (Araújo-Corrêa *et al.*, 1996).

As características da glândula sinus também são compartilhadas pelos caranguejos como por exemplo *Paratelphusa hydromous* (Parameswaran, 1956), *Gecarcinus lateralis*, *Cambarus virilis* (Bliss & Welsh, 1952, 1954), *Trichodactylus petropolitamus* (Valente, 1960), *Varuna litterata* (Madhyastha & Rangneker, 1973), e nos lagostins *Jasus lalandii*, e *Panulirus homarus* (Marco & Gäde, 1999).

A presença de órgãos neurohemais ainda que rudimentares está descrita mesmo para os crustáceos mais simples da ordem Entomostraca (Aguilar, 1977); evidenciando caráter conservativo destas estruturas.

Os vacúolos identificados na face dorsal do pedúnculo óptico das larvas de *M. potiuna*, provavelmente constituem os primórdios da papila ocular ligada ao órgão de Bellonci. Este órgão é bem caracterizado nos indivíduos adultos, porém ocupando uma posição ventral no pedúnculo óptico e ligados a um poro sensorial, também descrito no lagostim *Astacus leptodactylus* (Van Herp *et al.*, 1979) e no peneídeo *Palaemon serratus* (Bellon Humbert *et al.* 1978).

Hubschman (1965), descreveu o órgão de Bellonci ocupando uma posição dorsal nas larvas e ventral nos adultos da espécie *Palaemonetes kadiakensis*. Este autor aponta que a alteração da disposição é consequência de uma rotação no eixo do pedúnculo, ocorrida durante a metamorfose resultando na orientação permanente do órgão de

Bellonci para o substrato, visto que as larvas de hábito pelágico locomovendo-se com o abdômen voltado para cima, enquanto o adulto tem hábito bentônico. Resultados semelhantes foram descrito para *Palaemons serratus* por Bellon Humbert *et al.* (1978).

Os achados para *M. potiuna* são semelhantes ao descrito para as duas espécies acima citadas, embora as larvas de *M. potiuna* apresentem um comportamento bentônico desde a eclosão. Isto parece indicar que o desenvolvimento do órgão de Bellonci ocorre de maneira semelhante mesmo entre espécies cujas larvas apresentam diferentes comportamentos. No camarão de água doce *M. potiuna*, este pode ser um traço remanescente de um possível ancestral de vida larval pelágica.

Todos os neurópilos do gânglio cerebral de *M. potiuna* podem ser reconhecidos desde a primeira fase larval, apresentando posição e grau de fusão muito semelhante aos indivíduos adultos. As alterações mais evidentes referem-se às mudanças de orientação dos neurópilos, principalmente em virtude de seu crescimento, levando a uma reorganização dos pericários em agrupamentos celulares bem definidos, reconhecidos nos jovens e nos adultos, em contraste com o "córtex de corpos celulares" verificado nas larvas (Harzsch & Dawirs, 1993).

No protocérebro mediano as alterações referem-se ao crescimento dos neurópilos protocerebrais medianos anteriores e posteriores e na estruturação do corpo central. Nas larvas a ponte protocerebral é reconhecida como uma região de ligação entre o par de neurópilos protocerebrais medianos anteriores enquanto nos jovens e adultos apresenta-se com um neurópilo característico.

Uma característica marcante na região deutocerebral refere-se à presença de lobos olfatórios e acessórios fundidos. Enquanto os primeiros são descritos em praticamente todos os decápodes (Sandeman, 1982; Blaunstein *et al.*, 1988; Sandeman *et al.* 1992; Sandeman & Scholtz, 1995) a presença dos lobos acessórios é mais restrita.

Sandeman *et al.* (1993) estudando 12 espécies de decápodes verificou que os lobos acessórios estavam presente apenas nas espécies bentônicas. Ammar (2000), descreve que peneídeos de vida pelágica não apresentam lobos acessórios enquanto palemonídeos de vida bentônico possuem lobos acessórios fundidos aos olfatórios, o que o autor relaciona à uma inovação morfológica em função das exigências encontradas na tentativa de conquistar o ambiente dulciaquícola.

Em *M. potiuna* os lobos olfatórios e acessórios embora fundidos, apresentam organização glomerular desde a eclosão, diferente do observado na lagosta *Homarus americanus* que eclode com lobos olfatórios glomerulares (Helluy *et al.*, 1993), enquanto a glomerulização dos lobos acessórios ocorre durante a vida livre. No lagostim *Cherax destructor* (Helluy *et al.*, 1993) e no caranguejo *Carcinus maenas* (Harzsch & Dawirs, 1993) a glomerulização dos dois lobos ocorre somente na vida adulta. Os autores relacionam a glomerulização tardia dos lobos acessórios como um processo dependente dos estímulo ambientais, principalmente relacionados ao hábito de vida bentônico (Helluy *et al.* 1993).

Comparando-se as diferenças entre estas espécies, pôde-se sugerir que em *M. potiuna* o processo de glomerulização dos lobos olfatórios e acessórios ocorre precocemente, ainda durante o desenvolvimento embrionário, proporcionando que a larva à eclosão, esteja dotada de lobos olfatórios/acessórios glomerulares, conferindo-lhe uma maior habilidade de processar estímulos químicos sensoriais complexos (Sandeman, 1982) e resultando numa maior sobrevivência no instável bentos dulcícola.

Nas fases larval e juvenil, ocorre a incorporação de longos e esparsos neuritos oriundos das antênulas aos neurópilos laterais das antênulas. Nos indivíduos adultos evidencia-se que a integração bilateral das fibras destes neurópilos ocorre no neurópilo medial das antênulas. Pouco tem sido descrito na literatura sobre este neurópilo (Sandeman, 1982; Sandeman *et al.*, 1993), embora seja possível sugerir que constitua



uma região de integração de diferentes estímulos, como os de natureza química oriundos dos neurópilos deutocerebrais, mecânicos e químicos do tritocérebro e de estímulos visuais e neuroendócrinos originados na região protocerebral, o que contempla o pressuposto que o deutocérebro constitua uma região de integração neural.

Na região tritocerebral, em *M. potiuna*, foram identificados apenas os neurópilos laterais das antenas, os quais são dispostos perpendicularmente nas larvas e numa angulação de aproximadamente 45° nos adultos, o que provavelmente ocorre em virtude do alongamento do cefalotórax. Ammar (2000) descreve a presença dos neurópilos tegumentares para os machos desta espécie. A não visualização destes neurópilos nas larvas, jovens e fêmeas sugere que são bastante pequenos ou que suas fibras estão incorporadas às do neurópilo lateral da antena.

As mudanças que se processam nos neurópilos são acompanhadas por uma reorganização dos corpos celulares. O crescimento dos neurópilos do protocérebro mediano leva a um estreitamento do agrupamento medial anterior, com provável incorporação do agrupamento dorsal posterior, que não são mais identificados nos jovens e adultos.

O estreitamento dos agrupamentos laterais anterior e posterior ocorre decorrência do crescimento dos lobos olfatórios e acessórios. O denso agrupamento ventral medial, bastante significativo nas larvas e mesmo nos jovens, restringe-se à pequenos agrupamentos de corpos celulares posicionados na região mediana e lateral dos neurópilos deutocerebrais e do tritocérebro. Possivelmente muitos dos grandes corpos celulares que compõem o agrupamento lateral posterior e o agrupamento mediano posterior compunham o agrupamento ventral medial e com a dinâmica morfogenética sofreram um deslocamento para seus locais definitivos.

A presença de diferentes tipos de corpos celulares foi amplamente descrita na literatura, com variações significativas nas características morfológicas e

morfométricas, havendo contudo uma tendência à designação destes tipos celulares como células neurosecretoras.

Parameswaran (1956) apresenta 3 tipos para *Paratelphusa hydromous*; Madhyastha & Rangneker (1973) encontraram quatro tipos celulares para *Varuna litterata*; Valente (1960) descreve os tipos  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  no pedúnculo óptico de *Tritodactylus petropolitanus*; Hisano (1974) identificou 7 tipos celulares para *Palemon paucidens*; Araújo & Castro (1980) apresentam quatro tipos no gânglio cerebral de *Macrobrachium acanthurus* e quatro tipos no pedúnculo óptico desta mesma espécie (Corrêa *et al.*, 1993). Nestes estudos não fica evidente uma correspondência entre os tipos celulares descritos.

Em *M. potiuna* desde as fases larvais é possível identificar células com características morfológicas e morfométricas diferentes, tanto no pedúnculo óptico quanto no gânglio cerebral e que permitem nos jovens e adultos o reconhecimento de cinco diferentes tipos celulares.

Pelas características das células do tipo I, provavelmente correspondem à neurônios, enquanto as células do tipo IV apresentam características e localização típicas de células gliais. Os corpos celulares do tipo II e III são morfológicamente semelhantes, porém apresentam diferenças no tamanho do seu núcleo e nas dimensões citoplasmáticas, o que pode caracterizar fases diferentes de um mesmo tipo celular; nas células do tipo III são verificadas muitas vezes vacúolos citoplasmáticos típicos de células neurosecretoras. As grandes células do tipo V, possibilita-nos supor que correspondam a neurônios gigantes motores.

Estudos mais aprofundados, com a utilização de abordagens eletrofisiológica e de marcadores celulares específicos como por exemplo aqueles utilizados para a detecção dos hormônios e células neurosecretoras (Rotland *et al.* 1993; Zhang *et al.*,

1997; Marco & Gäde, 1999) são necessários para confirmação dos diferentes tipos celulares.

A imunolocalização da serotonina possibilitou a identificação deste neurotransmissor acompanhando a dinâmica do desenvolvimento nos estágios, larval, juvenil e adulto.

Na fase larval foi identificado no pedúnculo óptico um sítio de marcação serotoninérgica bem caracterizado que provavelmente corresponde ao órgão de Bellonci. Este sítio de marcação foi verificado nas três fases larvais estudadas, acompanhando as alterações de formato do pedúnculo óptico.

Um sítio de marcação com localização muito semelhante e seguindo a mesma dinâmica espacial, é descrito nas larvas de *Palaemon Serratus* por Bellon-Humbert & Van Herp (1988) porém os autores afirmam que a marcação está restrita, mesmo nos animais adultos, aos "corpos em cebola" os quais estariam envolvidos na secreção de serotonina.

As estruturas descritas como corpos em cebola não foram reconhecidos em *M. potiuna*, embora nas larvas da terceira fase, alguns dos corpos celulares marcados apresentaram regiões de laminações que correspondem em parte à descrição anatômica de um corpo em cebola.

É possível que os corpos celulares imunoreativos à serotonina, observados no pedúnculo óptico das larvas sejam estruturas correspondentes aos "corpos em cebola", e que estejam envolvidos na secreção da serotonina, porém a localização comum do sítio de marcação nas três fases larvais, parece indicar alguma participação deste neurotransmissor na diferenciação dos tipos celulares que envolvem a medula terminal e na formação do corpo hemielipóide.

As funções de direcionador do desenvolvimento, guia do crescimento de neuritos em direção aos seus órgão alvo e na diferenciação neuronal, além de promotora



do crescimento de populações neuronais específicas exercidas pela serotonina no sistema nervoso são descritas para outras espécies de crustáceos (Benton *et al.*, 1997; Harzsch & Dawirs, 1995).

A marcação serotoninérgica verificada nos grandes neurônios dorsais e ao redor dos lobos olfatórios e acessórios no segundo estágio larval de *M. potiuna*, parece indicar também a natureza modulatória desta substância no desenvolvimento, envolvida na modulação do crescimento dos neurópilos do deutocérebro conforme verificado também em *Hommarus americanus* por Benton *et al.* (1997).

Helluy *et al.* (1993) demonstram que na lagosta *Hommarus americanus*, os grandes neurônios deutocerebrais e os lobos olfatórios já apresentam marcação serotoninérgica, desde a metade do seu desenvolvimento embrionário, contrastando com os achados de Harzsch & Dawirs (1995) que no desenvolvimento larval os neurópilos do deutocérebro do caranguejo *Hyas arenaeus*, ainda não exibem marcação serotoninérgica.

No camarão de água doce *M. potiuna* e na lagosta *Homarus americanus* (Beltz *et al.*, 1992) os lobos olfatórios e acessórios são glomerulares à eclosão, ao contrário de *Hyas arenaeus* cujos lobos acessórios e olfatórios somente apresentarão organização glomerular posteriormente assim como a marcação serotoninérgica (Harzsch & Dawirs, 1995).

Helluy *et al.* (1993) propõe que as diferenças ontogenéticas presentes na organização dos centros deutocerebrais representam algum tipo de adaptação estrutural das estratégias de desenvolvimento entre as diferentes espécies. Este preceito parece válido para as diferenças verificadas no tempo de aparecimento da serotonina nos lobos deutocerebrais observadas nas espécies.

Nos indivíduos jovens e adultos da espécie *M. potiuna*, a imunolocalização serotoninérgica está mais amplamente distribuída, estendendo-se praticamente aos corpos

celulares associados a todos os neurópilos do gânglio cerebral e na região glomerular dos lobos olfatórios/acessórios. Marcação serotonérgica semelhante é descrita por Pacheco (2001) em indivíduos jovens de *M. olfersii*, não estando disponível na literatura informações sobre imunomarcação serotonérgica em indivíduos jovens de outras espécies.

No caranguejo adulto *Cancer antenarius*, Rudolph & Spazianini (1990) observaram marcação nos pericários da maioria dos agrupamentos celulares associados aos neurópilos, o que também é descrito para o lagostim adulto *Pacifastacus leniusculus* por Elofsson (1983).

Marcação nos glomérulos dos lobos olfatórios e acessórios, é descrita para diversas espécies como por exemplo a lagosta *Hommarus americanus* (Beltz & Kravitz, 1983), o lagostim *Pacifastacus leniusculus* (Elofsson, 1983) e em três espécies de palemonídeos do gênero *Macrobrachium* (Ammar, 2000).

No pedúnculo óptico, a imunolocalização serotonérgica é verificada nos agrupamentos ligados às medulas interna, externa e medula terminal, o que parece em conformidade com os achados no lagostim *Pacifastacus leniusculus* (Elofsson, 1983).

O grande neurônio associado ao trato da glândula sinus, o qual apresentou intensa marcação serotonérgica tanto nos indivíduos juvenis quanto nos adultos de *M. potiuna*, também é referenciado por Rudolph & Spaziani (1990) em caranguejos adultos da espécie *Cancer antenarius*. Nesta espécie, assim como em *M. potiuna*, não foi verificada marcação serotonérgica na glândula do sinus, no trato da glândula do sinus ou no órgão de Bellonci.

A imunolocalização serotonérgica no sistema nervoso dos indivíduos jovens e adultos provavelmente tem função diferente daquela observada durante o desenvolvimento larval.

Os dados para o pedúnculo ópticos sugerem que a serotonina exerça importante papel na modulação das respostas endócrinas através do grande neurônio da medula terminal, além dos corpos celulares associado às três medulas, conforme apresentado por Aréchiga *et al.* (1990) e Rudolph & Spaziani (1990).

Neste trabalho não foi possível observar com clareza distribuição serotonérgica nas fibras que compõem os neurópilos, sugerindo a necessidade de aprimoramento das técnicas imunohistoquímicas viabilizando uma determinação mais precisa dos locais de imunomarcacão.

O estudo do sistema nervoso do camarão de água doce *Macrobrachium potiuna* nos estágios larvais, juvenil e adulto permitiram o reconhecimento de diversas características também presente em outros crustáceos decápodes, indicando seu caráter conservativo e sugerindo que as particularidades de cada espécie encontram seu contrapondo nas exigências impostas pelos diferentes hábitos de vida e habitats em que estão inseridas.



## 6. CONSIDERAÇÕES GERAIS

O desenvolvimento larval em *Macrobachium potiuna* é do tipo abreviado. As larvas apresentam-se bastante especializadas e aptas á sobrevivência em ambiente dulcícola.

O gânglio cerebral e o pedúnculo óptico das larvas relembra o dos jovens e dos adultos, as maiores modificações decorrentes do desenvolvimento pós-embrionário referem-se ao aumento do tamanho dos neurópilos e da complexidade de conexões entre suas fibras, associado a uma reorganização dos agrupamentos de corpos celulares.

Durante a vida larval *M. potiuna* apresenta um modelo óptico de aposição, que vai gradualmente sendo substituído pelo modelo óptico de superposição identificado no adulto.

As alterações verificadas no olho composto durante a vida larval e juvenil estão relacionadas a um aumento do número de facetas, alongamento dos cones cristalinos, reorganização dos núcleos das células retinulares e aperfeiçoamento do sistema pigmentar isolante; conferindo ao adulto uma melhor capacidade de discriminação visual.

Os primórdios do órgão de Bellonci são identificados nas primeiras fases larvais ocupando posição dorsal no pedúnculo óptico, enquanto nos adultos é mais estruturado e tem localização ventral, o que sugere ser um traço remanescente de um ancestral de vida pelágica.

O corpo hemielipsóide somente é identificado nas larvas do segundo estágio, e durante o desenvolvimento larval assume grandes proporções, atingindo na idade juvenil a altura da medula externa do lobo óptico.

O rudimento da glândula sinus é verificado desde o segundo estágio larval ocupando a mesma posição nos indivíduos adulto. A morfologia desta estrutura é muito semelhante à dos crustáceos de diversos gêneros, indicando seu caráter conservativo.

Os lobos olfatório/acessório apresentam organização glomerular desde a eclosão, permitindo às larvas o processamento de informações complexas precocemente, enquanto a glomerulização da medula terminal ocorre mais tardiamente e parece dependente dos estímulos do ambiente bentônico.

Os corpos celulares das larvas formam um córtex celular contínuo, enquanto nos jovens e principalmente nos indivíduos adultos constituem agrupamentos celulares bem caracterizados.

O fenótipo celular está determinado no adulto e proporcionou a identificação de cinco diferentes tipos celulares no sistema nervoso, porém sua função somente pode ser precisamente determinada através de técnicas fisiológicas e de imunomarcagem específica.

A amina biogênica serotonina pôde ser imunodetectada no pedúnculo óptico e gânglio cerebral das larvas, jovens e adultos; sendo que nas primeiras, apresenta pequenos sítios de marcação inicialmente no pedúnculo óptico e posteriormente no deutocérebro, enquanto nos jovens e adultos está amplamente distribuída.

A serotonina durante o desenvolvimento larval parece estar envolvida na formação neuropilar e na diferenciação de populações neuronais específicas.

No adulto a serotonina parece ter outras funções, como a modulação dos corpos celulares do pedúnculo óptico, envolvidos na função neuroendócrina e na integração dos estímulos processados nos glomérulos dos lobos olfatórios/acessórios.

As características do sistema nervoso larval refletem as exigências encontradas no habitat bentônico desde a eclosão, e a complexidade neural atingida pelos adultos parece relacionada às crescentes exigências impostas pelo meio, acompanhadas pela ampliação do repertório comportamental.



## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADIYODI K. G., ADIYODI R. 1970. Endocrine control of reproduction in Decapod Crustacea. **Biological Reviews**, **45**: 21-165.

AGUILAR P. 1972. Le système neurosecréteur de L' *Argulus Foliaceus*. **Crustaceana**, **23**: 123-132.

AGUILAR P. 1977. Neurosecretion in *Artemia Salina*. **Fundamental and applied research on the brine shrimp Artemia Salina in Belgiun**, European mariculture society.:55-64.

AGUILAR P. 1979. Neurosecretion in entomostraca crustaceans. **La Cellule**, **73**: 1-22.

ALTMAN, J.S. & BELL, M. 1973. A rapid method for the demonstration of nerve cell bodies in invertebrate central nervous systems. **Brain Research**, **63**: 487-489.

AMMAR, D. 2000. Padrão morfológico para o sistema nervoso central de crustáceos decápodes. **Dissertação de Mestrado**. UFSC, SC. 76pp.

ANDREW, R. D.; ORCHARD, I. & SALEUDDIN, A. S. M. 1978. Structural re-evaluation of the neurosecretory system in the crayfish eyestalk. **Cell and Tissue Research**, **190**: 235-246

ARAÚJO, A.M.S. & CASTRO R. 1981. Observações morfológicas e citoquímicas de neurônios neurosecretores no gânglio supra-esofágico de *Macrobrachium acanthurus* (CRUSTACEA, DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Revista Brasileira de Biologia** **41**: 69-73

- ARAÚJO-CORRÊA A. M.; MATOS M. R. B.; GOMES M.G. S. DOS SANTOS G. V. & AMARAL A. D. 1996. O órgão-x gangliônico do pedúnculo ocular de *Macrobrachium Acanthurus* (Wiegman, 1836) (Crustacea, Decapoda, Palemonidae). **Revista Brasileira de Biologia**, **56**: 70-86.
- ARÉCHIGA, H.; GARCIA U.; MARTÍNEZ-MILLÁN L. 1990, Synaptic regulation of neurosecretory cell activity in the crayfish eyestalk. In: WIESE K.; K.KRENT, J. TAUTZ; H. REICHERT B. MULLONEY(ed) **Frontiers in Crustacean Neurobiology: Advances in life sciences**. Birkäuser Basel: Switzerland: 373-380.
- BARRINGTON, E. J. KL. 1979. Chemical coordination *In* BARRINGTON, E. J. KL **Invertebrate structure and function**. 2ed . Thomas Nelson & Sons Limited: Hong Kong .492-541.
- BEÇAK, W. & PAULETE, J. 1976. **Técnicas de Citologia e Histologia**. Vol. 1, Ed. Livros Técnicos e Científicos: Rio de Janeiro. 310pp.
- BELLON-HUMBERT, C. & VAN HERP, F. 1988. Localization of Serotonin-Like immunoreactivity in the Eyestalk of the Prawn *Palaemon serratus*. **Journal of Morphology**, **196**: 307-320.
- BELLON-HUMBERT, C; THIJSEN, M. J. P.; VAN HERP, F. 1978. Development, location and relocation of sensory and neurosecretory sites in the eyestalks during the larval and postlarval life of *Palaemon serratus* (Pennanot). **J. Mar. Ass. U.K.**, **58**: 851-868.
- BELTZ, B.S. 1999. Distribution and functional anatomy of amine-containing neurons in decapod crustaceans. **Microscopy Research and Technique**, **44**: 105-120.
- BELTZ, B.S.; HELLUY, S.M.; RUCHHOEFT, M.L. & GAMMILL, L.S. 1992. Aspects of the Embryology and Neural Development of the American Lobster. **The Journal of Experimental Zoology**, **261**: 288-297.

- BELTZ, B.S.; KRAVITZ, E. 1982. Mapping of serotonin-like immunoreactivity in the lobster nervous system. **The Journal of Neuroscience**, **3**: 585-602.
- BENTON, J.; HUBER, R.; RUCHHOEFT, M.; HELLUY, S. & BELTZ, B. 1997. Serotonin Depletion by 5,7-Dihydroxytryptamine Alters Deutocerebral Development in the Lobster, *Homarus americanus*. **Journal of Neurobiology**, **33**: 357-373.
- BLAUSTEIN, D.N.; DERBY, C.D.; SIMMONS, R.B. & BEALL, A. 1988. Structure of the brain and medulla terminalis of the spiny lobster *Panulirus argus* and the crayfish *Procambarus clarkii*, with na emphasis on olfactory centers. **Journal of Crustacean Biology**, **8**(4): 493-519.
- BLISS, D. E. & WELSH, J. H., 1952. The neurosecretory system of brachyurum Crustacea. **Biological Bulletin Wood's Hole**, **103**:157-169.
- BLISS, D. E.; J. B. DURAND; H. WELSH. 1954. Neurosecretory systems in Decapod Crustacea. **Zeitschrift für Zellforschung** **39**: 520-536.
- BOLELI, I.C. & PAULINO-SIMÕES, Z.L. 1999. Mapping of serotonin-immunoreactive neurons of *Anastrepha obliqua* Macquart larvae. **Revista Brasileira de Zoologia**, **16**(4): 1099-1107.
- BOND-BUCKUP, G. & BUCKUP, L. 1989. Os Palemonidae de Águas Continentais do Brasil Meridional (Crustacea, Decapoda). **Revista Brasileira de Biologia**, **49**: 883-896.
- BRESSAN, C.M. & MÜLLER, Y.M.R. 1997. Characterization of Embrionized Nauplius Development of *Macrobrachium acanthurus* (Crustacea, Decapoda). **Brazilian Journal Morphological Sciences**, **14**(2): 243-246.
- BRESSAN, C.M. 1998. Embriologia e desenvolvimento neural das fases de nauplius e pós-nauplius de *Macrobrachium acanthurus* (DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Dissertação de Mestrado**. UFSC, SC. 77pp.



CHAIGNEAU, J. 1977. L'organe de Bellonci des crustacés, mise au point sur l'ultrastucture et sur l'homologie des types avec et sans corps en oignon. **Annales des Sciences naturelles, Zoologie et Biologie Animale**, 19: 401-438.

CHOUNDHURY, P.C. 1962. Complete larval development of the palemonid shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) reared in laboratory (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana**, 20: 1-11.

CHARMANTIER -DAURES, M.; SEGONZAC M. 1998. Organ of bellonci and sinus gland in three decapods from Atlantic hydrothermal vents: *Rimicaris exoculata*, *chorocaris chacei*, and *Segonzacia mesatlantica*. **Journal of Crustacean Biology**, 18: 213-232.

CHEUNG, T. S. 1969. The environmental and hormonal control of growth and reproduction in the adult female stone crab, *Menippe Mercenaria* (Say). **Biological Bulletin**, 136:327-346.

CHOUNDHURY, P.C. 1962. Complete larval development of the palemonid shrimp *Macrobrachium carcinus* (L.) reared in laboratory (Decapoda, Palaemonidae). **Crustaceana** 20, 1-11.

COOKE, L; SULLIVAN, R. 1982. Hormones and neurosecretion. In: ATWOOD H. & SANDEMAN D. (ed) **The Biology Of Crustacea**, Vol. 3. Neurobiology: Structure And Function . Academic Press:New York: 205-290.

DELCOMYN, F. 1991. Central Nervous Systems: Arthropods. In: PROSSER, C.L. (ed.) **Neural and Integrative Animal Physiology**. 4<sup>th</sup> ed. Wiley-Liss: 617-639.

DENK, H.; KÜNZLE H.; PLENK JR.,H.; RÜSCHOFF J. ; SELLNER W. 1989. **Romeis Mikroskopische Technik** .19<sup>a</sup> ed.. Urban und Schwartzenberg: München: 8.

DIAS, M.; FIRMINO JR. P.; AMMAR, D. MÜLLER, Y. M. & NAZARI E. Análise do volume dos ovos de *Macrobrachium potiana* e *Macrobrachium olfersii* (DECAPODA, PALAEMONIDAE). RESUMO. **I Congresso Brasileiro sobre Crustáceos**, São Pedro: São Paulo:144.

ELOFSSON, R. 1983. 5ht-like immunoreactivity in the central nervous system of the crayfish, *Pacifastacus Lenisculus*. **Cell Tissue Research** , **232**: 221-236.

FINGERMAN, M. 1987. The endocrine mechanism of crustaceans. **Journal of Crustacean Biology**, **7** : 1-24.

FINGERMAN, M.; FINGERMAN, M.; NAGABHUSHANAM, R.; SAROJINI, R. & REDDY, P.S. 1994. Biogenic amines in crustaceans identification, localization, and roles. **Journal of Crustacean Biology**, **14(3)**: 413-437.

FINGERMAN, M. 1995 Endocrine mechanisms in crayfish, with emphasis on reproduction and neurotransmitter regulation of hormone release. **American Zoologist**, **35**: 68-78.

FINGERMAN, M. 1997. Crustacean endocrinology: a retrospective, prospective, and introspective analysis. **Physiological Zoology**, **70 (3)**: 257-269.

FINGERMAN, M.; JACKSON N. C.; NAGABHUSHANAM R. 1998. Hormonally-regulated function in crustaceans as biomarkers of environmental pollution. **Comparative Biochemistry and Physiology C** (120): 342-350.

GARCIA, U.; ARÉCHIGA H., 1998. Regulation of crustacean neurosecretory cell activity. **Celular and Molecular Biology**, **18(1)**: 81-99.

GOMES-CORRÊA, M. M. 1977. Palemonídeos do Brasil (CRUSTACEA-DECAPODA-NATANTIA). **Dissertação de Mestrado**. UFRJ. Rio de Janeiro.

GOOTFRIED, M.; STROLEMBERG, E.C.M.; BELLON HUMBERT, C. M.M.; VAN HERP F.; WORMHOUDT, A . 1977. Etude ultra-structurale des granules de

neurosecrétion dans la lande du sinus de *Palaemon serratus* Pennant. **C.R. Acad. Sc. Paris 284**: 123-127.

HÄNSTROM, B. 1947. The brain, the sense organs, and the incretory organs of the head in the crustacea Malacostraca, **Kunglia Fysiografiska Sällskapet, I Lçund, Handlingar 58**: 1-45.

HARZSCH, S. & DAWIRS, R.R. 1993. On the morphology of the central nervous system in larval stages of *Carcinus maenas* L. (Decapoda, Brachyura). **Helgoländer Meeresunters, 47**: 61-79.

HARZSCH, S. & DAWIRS, R.R. 1996. Maturation of the compound eyes and eyestalk ganglia during larval development of the brachyuran crustaceans *Hyas araneus* L. (Decapoda, Majidae) and *Carcinus maenas* L. (Decapoda, Portunidae). **Zoology, 99**: 189-204.

HARZSH, S. & DAWIRS, R.R. 1995. A developmental study of serotonin-immunoreactive neurons in the larval central nervous system of the spider crab *Hyas araneus* (Decapoda, Brachyura). **Invertebrate Neuroscience, 1**: 53-65.

HELLUY, S.; SANDEMAN, R.; BELTZ, B. & SANDEMAN, D. 1993. Comparative Brain Ontogeny of the Crayfish and Clawed Lobster: Implications of Direct and Larval Development. **The Journal of Comparative Neurology, 335**: 343-354.

HENRY, L.M. 1948. The nervous system and the segmentation of the head in the Annulata. **Microentomology, 13(1)**: 1-26.

HEISENBERG, M.; BORST, A ; WAGNER, S. BYERS, D. 1985. Drosophila mushroom body mutants are deficient in olfactory learning. **Journal of Neurogenetics, 2**: 1-30

HISANO, S. 1974. The eyestalk neurosecretory cell types in the freshwater prawn *Palaemon paucidens*. **Journal Faculty of Sciences Hokkaido University, 19**:503-514.



- HOMOLA, E.; CHANG, E. 1997. Methyl farnesoate: crustacean juvenile hormone in search of functions. **Comparative Biochemistry and Physiology** **117B**: 347-356.
- HOLTHUIS, L.B. 1952. A general revision of the Palaemonidae (Crustacea, Decapoda, Natantia) of the Americas. II. The subfamily Palaemoninae. **Allan Hancock Foundation Publications, Occasional Papers**, **12**: 1-396.
- HUBSCHMAN, J. H. 1963. Development and function of neurosecretory sites in the eyestalks of larval palaemonetes (Decapoda: Natantia). **Biological Bulletin. Marine Biological Laboratory, Woods Hole**, **125**, 96- 113.
- KELLER R. 1992. Crustacean neuropeptides: structures, functions and comparative aspects **Experientia**, **48**:439-448.
- KNOWLES, F.G.B. & CARLISLE, D. B. 1956, Endocrine control in the crustacea. **Biological Review**, **31**: 396-473.
- KRAVITZ, E. 1988. Hormonal control of behaviour: amines and the biasing of behavioral output in lobsters. **Science**, **241**: 1775-1781.
- LANGWORTHY, K.; HELLUY, S.; BENTON, J. & BELTZ, B. 1997. Amines and peptides in the brain of the American lobster: immunocytochemical localization patterns and implications for brain function. **Cell Tissue Research**, **288**: 191-206.
- LAUFER, H.; AHL, J.S. & SAGI, A. 1993. The Role of Juvenile Hormones in Crustacean Reproduction. **American Zoology**, **33**: 365-374.
- LAVERACK M. S. 1988. The numbers of neurones in decapod crustacea. **Journal of Crustacean Biology**, **8**(1): 1-11.
- MADHYASTHA, M. N. & RAGNEKER P.V. 1973. Observations on the neurosecretory cells of the crab, *Varuna Litterata* (Fabricius). **Journal of Animal Morphology and Physiology**. **20**: 5-13

MARCO, H. G.; GÄDE, G. 1999. A Comparative immunocytochemical study of the hyperglycaemic, moult-inhibiting and vitellogenesis-inhibiting neurohormone family in three species of decapod Crustacea. **Cell and Tissue Research**, **295**: 171-182.

McLAUGHLIN, P.A. 1983. Internal Anatomy. *In*: BLISS, D.E. **The Biology of Crustacea**. Vol. 5. Academic Press: New York. p: 1-50.

McNAMARA, J. 1993. Exposure to high salinity medium and neurosecretion in the anteromedial cells of the supraesophageal ganglion of the fresh-water shrimp *Macrobrachium Olfersii* (Decapoda). **Journal Of Crustacean Biology**, **13**:409-422.

MOREIRA G.S.; McNAMARA J. C.; SHUMWAY, S.; MOREIRA, P. 1983. Osmoregulation and respiratory metabolism in brazilian *Macrobrachium* (DECAPODA, PALAEMONIDAE). **Comparative Biochemistry and Physiology**, **74**: 57-62

MULLER, F. 1892. O camarão preto, *Palaemon potiuna*. **Arquivos do Museu Nacional do Rio de Janeiro**, vol. 8.

MÜLLER, Y.M.R. 1984. Die Embryonalentwicklung von *Macrobrachium carcinus* (L.) (Malacostraca, Decapoda, Natantia). **Zoological Jahrbücher Anatomic**, **112**: 51-78.

MÜLLER, Y. M. R. & CARPES, S. 1991. *Macrobrachium potiuna* (Müller, 1880): aspectos do ciclo reprodutivo e sua relação com parâmetros ambientais. **Revista brasileira de Zoologia** **8**:23-30.

MÜLLER, Y.M.R.; NAZARI, E.M.; AMMAR, D.; FERREIRA, E.C.; BELTRAME, I.T. & PACHECO, C. 1999. Biologia dos Palaemonidae (Crustacea, Decapoda) da bacia hidrográfica de Ratonas, Florianópolis, Santa Catarina, Brasil. **Revista Brasileira de Zoologia**, **16**(3): 629-636.

NAZARI, E.M.; MÜLLER, Y.M.R. & AMMAR, D. 2000. Embryonic development of *Palaemonetes argentinus* NOBILI, 1901 (Decapoda, Palaemonidae), reared in the laboratory. **Crustaceana**, **73**(2): 143-152.

NILSSON, D. E.; D. OSORIO. 1997. Homology and parallelism in arthropods sensory processing. *In: Arthropod relationships, systematics association*. Chapman & Hall, London, 55: 333-347.

NILSSON, D. E. 1983. Evolutionary links between apposition and superposition optics in crustacean eyes. *Nature*, **302**: 818-821.

ODINETZ-COLART, O. & RABELO, H. 1986. Variation in egg size of the freshwater prawn *Macrobrachium amazonicum* (Decapoda, Palaemonidae) *Journal of crustacean biology*, **16**(4):684-688.

OSORIO, D. & BACON, J.P. 1994. A Good Eye for Arthropod Evolution. *BioEssays*, **16** (6): 419-424.

OSORIO, D.; BACON, J.P. & WHITINGTON P. M. 1997. Modern insects and crustacean diverged from na ancestor over 500 million years ago, but their neural circuitry retains many common features. *American Scientist*: 244-253

PACHECO, C. 2001. Organização do sistema nervoso central e de neurônios serotoninérgicos em embriões e indivíduos jovens de *Macrobrachium Olfersii*. *Dissertação de Mestrado*. UFSC, Florianópolis, SC. 110 pp.

PARAMESWARAN R. 1956. Neurosecretory cells of the central nervous system of the crab, *Parathelphusa hydromous*. *Quarterly Journal of Microscopical Science*, **97**: 75-82.

PASTEUR-HUMBERT. C. 1962. Influence de l'ablation de l'organe X (pars distalis), sur la meu, chez la Crevette *Palaemon* (=Leander) *serratus* (Pennant). *Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences*, **254**: 1160-1162.

PAULUS, H. F. 1979. Eye structure and the monophyly of the Artropoda. *In: Gupta A (Ed.) Artropod Phylogeny*. Van Nostrand Reinhold, New York, Pp 299-383.



PEREIRA, G. A; GARCIA, J. V. Larval development of *Macrobrachium reyesi* Pereira (Decapoda:Palaemonidae), with a discussion on the origin of abbreviated development in palaemonids. **Journal of Crustacean Biology**, **15** :117-133

PRECIADO, M.; TSUTSUMI V.; ARÉCHIGA H. 1994. Ultrastructural features of neurosecretory cells in the medulla externa of the crayfish eyestalk. **General and Comparative Endocrinology**, 95:432-442.

RADWAN, W.A.; GRANGER, N.A. & LAUDER, J.M. 1989a. Development and distribution of serotonin in the central nervous system of *Manduca sexta* during embryogenesis. I. The brain and frontal ganglion. **International Journal of Developmental Neuroscience**, 7(1): 27-41.

RUDOLPH, P.H.; SPAZIANI E. 1990. Distribution of serotonergic neurons in the eyestalk and brain of the crab *Cancer antenarius*. **Comparative Biochemistry and Physiology** 97C: 241-245.

ROTLAND, G.; DE KLEJIN, D.; CHARMANTIER-DAURES, M.; CHARMANTIER, G. VAN HERP, F. 1993. Localization of crustacean hyperglycemic hormone and gonad inhibiting hormone in the eyestalk of *Homarus gammarus* larvae by immunocytochemistry and in situ hybridization. **Cell Tissue Research**, 271: 507-512.

SAÉNZ F.; GARCIA U.; ARÉCHIGA H. 1997 Modulation of electrical activity by 5-hydroxytryptamine in crayfish neurosecretory cells. **The Journal Of Experimental Biology**, 200:3079-3090.

SANDEMAN, D.C. 1982. Organization of the central nervous system In: H. L Atwood; D.C. Sandeman, eds., **The biology of crustacea**: v. 03, Neurobiology: Structure and Function. Academic Press, New York: 2-55.

SANDEMAN, D.C.; SANDEMAN, R.; DERBY, C. & SCHMIDT, M. 1992. Morphology of the Brain of Crayfish, Crabs, and Lobster: A Common Nomenclature for Homologous Structures. **Biological Bulletin**, **183**: 304-326.

SANDEMAN, D.C. & SCHOLTZ, G. 1995. Ground plans, evolutionary changes and homologies in decapod crustacean brains. *In*: Breidbach, O.; Kutsch, W., (eds.). **An Evolutionary and Comparative Approach**. Birkhäuser Verlag Basel: Switzerland. p: 329-347.

SAROJINI R. ;NAGABHUSHANAM R.; DEVI M. & FINGERMAN M. 1993. In Vivo Ealuation Of 5-Hydroxytryptamine Stimulation Of The Testes In The Fiddler Crab, *Uca Pugilator*. **Comparative Biochemistry And Physiology**, 106C: 321-325.

SCHÜRMAN, F-W; SANDEMAN R.; SANDEMAN D. 1991. Dense core vesicles and non-synaptic exocytosis in the central body of the crayfish brain. **Cell and Tissue Research**, 265: 493-501.

SOLLAUD M. E. 1923. Le development larvaire des Palaemoninae. I. Partie descriptive. La condensation progressive de l'ontogenese. **Bulletin Biologique de la France et la Belgique**, 57: 509-603

SUBRAMONIAN T. 2000. Crustacean ecdysteroids in reproduction and embryogenesis. **Comparative biochemistry and Physiology** 125C: 135-156.

UTTING, M.; AGRICOLA, H.-J.; SANDEMAN R.;SANDEMAN, D. 2000. Central complex in the brain of crayfish and its possible homology with that of insects. **Journal of Comparative Neurology**, 416: 245-261.

VALENTE D. 1960. **Contribuição para o estudo da neurosecreção nos crustáceos**. Faculdade de Filosofia Ciências e Letras da Universidade de São Paulo: São Paulo. 73pp.

VALLÉS, A.M. & WHITE, K. 1988. Serotonin-containing neurons in *Drosophila melanogaster*: Development and distribution. **Journal of Comparative Neurology**, 268: 414-428.

VAN HERP, F.; BELLON-HUMBERT, C; De GROOT, J. M. 1979. Presence and development of a sensory formation in the eyestalk of the crayfish, *Astacus leptodactylus* (Nordmann, 1842), during its embryoni, larval and adult lyfe. **Journal of morphology**, **161**: 39-50.

WEATHERBY, T. M. 1981. Ultrastructural study of the sinus gland of the crab, *Cardisoma Carnifex*. **Cell Tissue Research**, **200**: 293-312

WORMHOUDT , A.; BELLON HUMBERT, C; MALCOSTE, R. 1976. Effets de l'ablation des glandes endocrines pédonculaires (glande du sinus et organe de Bellonci) et de la lumière sur le variations des activités enzymatiques digestives de *Palaemon serratus* (Pennant). **Arquives de zoologie Experimentâles & Générales**, **117**: 451-468.

ZHANG, Q. KELLER, R. DIRCKSEN H. 1997. Crustacean hyperglycaemic hormone in the nervous system of the primitive species *Daphnia magna* and *Artemia salina* (Crustacea: Branchipoda). **Cell and Tissue Research**, **287**: 565-567.